

Hémopathies Lymphoïdes B Matures

GRUPE FRANCOPHONE D'HÉMATOLOGIE CELLULAIRE



Avec la participation de l'intergroupe du GCFLLC/MW-GOELAMS
et de la Société Française d'Hématologie

Du 15 au 17 mai 2013

CENTRE INTERNATIONAL DE
DEAUVILLE

RECUEIL DES COMMUNICATIONS

COMITÉ D'ORGANISATION

Bernard Chatelain
Alain Delmer
Odile Fenneteau
Véronique Leblond
Claude Preudhomme
Gérard Sébahoun

COMITÉ SCIENTIFIQUE

Florence Cymbalista
Pascale Felman
Hélène Merle Béral
Karim Maloum
Xavier Troussard

COMITÉ ORGANISATION ATELIER

Valérie Bardet
Franck Geneviève
Jean-François Lesesve





RECUEIL DES COMMUNICATIONS

Ce recueil des communications a été réalisé
grâce au soutien de :

AMGEN

14h-17h30

Coordonnateurs : Valérie Bardet, Franck Geneviève, Jean-François Lesesve

ATELIER DE CAS CLINIQUES SUR LE THÈME « HÉMOPATHIES LYMPHOÏDES B MATURES HORS LLC TYPIQUES »

A LEUCO-AGGLUTINATIONS ET SATELLITISMES PLAQUETTAIRES REVELANT UN SLP B

■ A1- Leuco-agglutination révélatrice d'un syndrome lymphoprolifératif.

Lemaire Pierre (HEGP, Paris)

Patient de 75 ans suivi pour un diabète de type 2, sans autre pathologie notable, ne présentant ni adénopathie ni organomégalie.

Hématies : 4,9 T/l
Hb : 15,3 g/dl
VGM : 96
Leucocytes : 9,4 G/l
PNN : 3,7
Ly : 4,8 G/l
Mono : 0,5 G/l
Plaquettes : 374 G/l

Seules les alarmes lymphocytes atypiques/ blastes sont objectivées.

L'immunophénotypage réalisé suite à l'aspect général des lymphocytes :

CD19, kappa d'intensité moyenne, CD5, FMC7, CD22, CD20 +, CD23 -
L'électrophorèse des protides montre la présence d'un pic monoclonal évalué à 7 g/l et l'immunofixation une Ig M kappa monotypique

Au total, il s'agit d'une découverte fortuite suite à une :

1/ Leucoagglutination avec présence en parallèle de lymphocytes morphologiquement anormaux
2/ Validité de la leucocytose rendue par l'automate ? : possible sous-estimation de la leucocytose (1) mais primauté du diagnostic sur les valeurs leucocytaires.

(1) : *Spurious counts and spurious results on Hematology Analyzers : white blood cells, hemoglobin, red cell indices and reticulocytes. M. Zandecki, F. Geneviève, J. Gérard et A. Godon. Laboratory Hematology Practice, first edition p 79-95.*

■ A2- Leucoagglutination double, sélective, révélatrice d'un syndrome lymphoprolifératif.

Lemaire Pierre (HEGP, Paris)

Patient de 89 ans suivi pour Alzheimer, ne présentant ni adénopathie ni organomégalie.

NFS :
Hématies : 4,3
Hb : 13,9 G/dl
VGM : 90
Leuco : 5,7 G/l
Plq : 270 G/l
Formule : PN 3,3 Eo : 0,3 Baso : 0 Ly : 1,6 Mono : 0,5

Seule l'alarme lymphocytes atypiques est objectivée

Typage : CD 19, CD 20, CD 22, lambda d'intensité forte, FMC 7 +, CD 5 -, CD 23 -

Au total, il s'agit d'une découverte fortuite suite à une :

1/ Leuco agglutination double, sélective :
A. Amas de lymphocytes de morphologie anormale
B. Amas de PNN

2/ Validité de la leucocytose rendue par l'automate : possible sous-estimation de la leucocytose mais primauté du diagnostic sur les valeurs leucocytaires.

■ A3 - Découverte fortuite d'un lymphome B à petites cellules dans le bilan d'une leuco-agglutination de cellules lymphocytaires.

Nicolas Desjardins (Hopital SUD d'Amiens, CBH, Laboratoire d'hématologie)

Nous rapportons un cas de découverte fortuite d'un lymphome indolent à petites cellules chez une patiente de 77 ans hospitalisée au CH d'Abbeville pour prise en charge d'une fracture du col du fémur. Une numération formule sanguine a été réalisée sur tube EDTA dans le bilan pré-opératoire systématique. En raison d'une lymphocytose très modérée (4,2 G/L) et d'une alarme «cellules lymphoïdes atypiques» un contrôle microscopique de la formule a été fait. Une discordance importante entre la formule automate (45% de lymphocytes) et la formule manuelle (20% de lymphocytes) a entraîné un contrôle approfondi du frottis qui a montré de très nombreux amas de cellules lymphocytaires sur les bords du frottis. Ces amas persistent également lors de prélèvements effectués sur tube citrate et après maintien au chaud des prélèvements.

Un bilan plus complet a permis de diagnostiquer un lymphome B à petites cellules (Score de Matutes à 1, CD5+, Cycline D1 négative) avec localisation médullaire et splénomégalie très modérée qui nécessite pour l'instant une simple surveillance.

Ce cas illustre le risque d'erreur dans la numération leucocytaire lié à une leuco-agglutination, phénomène classique et connu pour les neutrophiles mais plus rare pour les lymphocytes et qui comme dans ce cas peut révéler une hémopathie sous-jacente.

■ A4 - Lymphomes de la Zone Marginale : étude rétrospective de la fréquence de phénomène de lymphoagglutination et de satellitisme plaquettaire.

M. Pichon (1), C. Froehlich (1), E. Callet-Bauchu (2), L. Vila (1)

1. Laboratoire d'hématologie cellulaire, Hôpital Edouard Herriot, Lyon

2. Laboratoire d'hématologie, Groupement Hospitalier Lyon Sud.

Introduction : La dissémination sanguine des lymphomes splénique de la zone marginale (LZM) est un phénomène fréquent et mise en évidence par les caractéristiques morphologiques et immunologiques : cellules à chromatine condensée au cytoplasme basophile parfois avec villosités (diapo 2), des phénomènes d'auto-immunité sont présents dans 20% des cas des LZM et dans un tiers de cas un pic monoclonal est associé. (1)

A partir des données de la littérature se référant aux phénomènes d'agglutination et de satellitisme plaquettaire aux lymphocytes dans les cas de LZM nous avons étudié des cas diagnostiqués dans notre laboratoire afin de connaître la fréquence de ces phénomènes dans notre recrutement. Un contexte dysimmunitaire éventuellement associé a également été recherché.

Objectifs :

- Evaluer la fréquence des satellitisme et lymphoagglutination dans les cas de LZM avec ou sans lymphocytes villeux.
- Identifier des caractères cliniques et biologiques associés à ces manifestations.

Matériel et Méthodes : Parmi les 60 cas de LZM diagnostiqués entre 2007-2012, nous avons retenus 23 cas avec une dissémination sanguine lors du bilan initial. Ont été retenus les dossiers complets.

Les cas de satellitisme plaquettaire retenus étant définis comme étant la présence en nombre significatif d'au moins 2 plaquettes de toute taille accolées à un lymphocyte d'allure pathologique dans une zone d'étalement du frottis considérée comme optimale. (diapo 7)

La lymphoagglutination étant retenue s'il était retrouvé une présence significative de lymphocytes accolés (2 ou plus). (diapo 8)

Résultats :

Caractéristiques clinico-biologiques de la population étudiée :

Age :	53 - 85 (moy : 72,6)
Sexe H/F	15 / 8
LZM avec lymphocytes villeux	9
LZM sans lymphocytes villeux	14
Score de Matutes	0 - 3
GB (G/L)	2,9 - 41,3 (moy : 18,1)
Hémoglobine (g/dL)	7,5-15,9 (moy : 12,8)
Plaquettes (G/L)	43 - 326 (moy : 164,5)
Lymphocytes (G/L)	0,49, 21,38 (moy : 10,47)
Splénomégalie	12
Adénomégalie	7
Présence d'une gammapathie	4
Caryotype anormal A/N *	8

*Anomalies : 3 cas : del (7) (q22) ; 3 cas : trisomie 3 ; 2 cas : del(13) (q14) ; 3 cas : trisomie 18; 2 ; 1 cas : t (3;12); 1 cas : t (9,14); 1 cas : t (6;15)

14h-17h30

Coordonnateurs : Valérie Bardet, Franck Geneviève, Jean-François Lesesve

ATELIER DE CAS CLINIQUES SUR LE THÈME « HÉMOPATHIES LYMPHOÏDES B MATURES HORS LLC TYPIQUES »

B ASSOCIATIONS D'HEMOPATHIES

■ B1- A propos d'une LLC de présentation clinique et biologique atypique révélant une double hémopathie lymphoïde.

A. Vincenot, W Abarah, L Fouillard, E André-Kernéis.

Laboratoire et service d'hématologie clinique, Centre Hospitalier de Meaux

Mr S, 52 ans, est adressé en consultation d'hématologie pour exploration d'une thrombopénie et d'une hyperlymphocytose de découverte fortuite lors d'un bilan systématique. Il n'a pas d'antécédents particuliers, hormis une cure de hernie inguinale.

Sa Numération Formule Sanguine (NFS) révèle une hyperleucocytose à 12,64 G/l, une thrombopénie à 53 G/l, sans anémie (143 g/l). L'hyperleucocytose est constituée essentiellement de lymphocytes : 11 G/l, avec une neutropénie (1,4 G/l) et une monocytopenie (0,07 G/l), tandis que les taux d'éosinophiles et de basophiles sont normaux.

L'examen du frottis sanguin met en évidence la présence d'une population lymphoïde de taille petite à moyenne, à noyau arrondi, chromatine dense hypermottée, au cytoplasme peu abondant, modérément basophile, parfois ourlé de bleu en périphérie, associée à de rares cellules d'allure prolymphocytaire (cf figure 1), évoquant un syndrome lymphoprolifératif (SLP) de type LLC.

Le diagnostic est confirmé par l'immunophénotypage qui retrouve une population CD45 fort, 10-, 19+, 22-, 5+, 23+, FMC7- exprimant faiblement la chaîne légère Kappa (score Matutès : 5/5).

Le caryotype conventionnel sanguin est normal, tandis qu'est mise en évidence par FISH une délétion 13 (79% des mitoses) ainsi qu'une perte bi-allélique du locus D13S319 du chromosome 13 (65%), compatible avec le diagnostic de SLP de type LLC.

L'examen clinique retrouve un bon état général, avec la présence d'adénopathies au niveau cervical et jugulo-carotidien, d'une splénomégalie de 3 travers de doigt sous le rebord costal, asymptomatique. Il n'y a pas de signes généraux.

La présence de cette thrombopénie non immunologique inhabituelle chez un patient atteint de LLC de faible masse tumorale incite la clinicienne à réaliser un myélogramme avec immuno-phénotypage.

L'examen du myélogramme montre une moelle de richesse normale, caractérisée par une hypoplasie du compartiment myéloïde (16%, N>50%), avec conservation des compartiments mégacaryocytaire et érythroblastique. Est objectivée une hyperplasie du compartiment lymphoïde, représenté par les mêmes éléments qu'en périphérie, associés à quelques éléments de taille moyenne au cytoplasme modérément abondant, très faiblement basophile, chevelu, au noyau arrondi à réniforme, à chromatine dense à peignée (cf photos) évoquant des tricholeucocytes.

L'immuno-phénotypage montre la présence de 2 populations lymphoïdes B : une majoritaire (62% des cellules) correspondant à la LLC-B et une minoritaire (5% des leucocytes) exprimant fortement la chaîne légère lambda, les CD103, 25 et 11c, ainsi que les CD79b, 20, FMC7 ; tandis que les marqueurs CD 23, 5, 10 et 43 sont négatifs (score Matutès : 0/5).

Enfin, est porté le diagnostic simultané d'une double hémopathie : LLC-B / leucémie à tricholeucocytes (HCL). Le patient est en cours de traitement par l'association rituximab-fludarabine-endoxan, réputée efficace sur les 2 pathologies.

Discussion

La coexistence de 2 hémopathies lymphoïdes chez un même patient est bien connue, la plus fréquemment rencontrée étant la transformation localisée d'un LNH de bas grade en LNH de haut grade. L'apparition d'une seconde néoplasie chez les patients atteints de HCL a été également largement documentée, telle la survenue d'une maladie de Hodgkin, d'un myélome ou d'un SLP.

Cependant, l'association HCL/LLC [1, 3, 4] est rarement décrite, même si certains auteurs ont rapporté une incidence de 11,5% de leurs 26 cas de HCL (% nécessitant une confirmation sur une plus grande série) [1].

La recherche d'une double hémopathie doit être réalisée :

- 1) devant les signes d'alerte que constituent des cytopénies ou organomégalies inexplicables
- 2) en utilisant un panel d'anticorps suffisamment développé, qui permet de détecter le maximum de clones pathologiques.

Les cellules de HCL ont pour origine les cellules des centres germinatifs, et ont un phénotype de cellules lymphoïdes B normales activées (CD22, 25 et 40 ligand). De plus, les antigènes spécifiques des cellules HCL (CD11c, CD103) ont été associés à l'activation de certaines cellules, notamment lymphoïdes. Ainsi, il a été montré que des cellules de LLC traitées en culture pouvaient acquérir le phénotype de HCL, sans en présenter toutefois leurs caractéristiques cytologiques [2].

Sur le plan moléculaire, les cellules HCL ont des mutations somatiques de la région variable des gènes des Ig, marque de leur origine germinale ou post-germinale, comme un certain nombre de cas de LLC. Les quelques études moléculaires d'analyse des réarrangements des gènes des Ig des lymphocytes B ont permis à chaque fois de distinguer 2 populations avec 2 réarrangements différents [1, 4], suggérant que les clones de HCL et LLC ont des origines distinctes. Dans notre cas, la monotypie différente des chaînes légères permet aussi de l'évoquer.

Par ailleurs, il est décrit que la présence d'une 1ère hémopathie (LLC ou HCL) favorise l'apparition d'une 2ème par un phénomène de perte de surveillance immunitaire. Ainsi, le phénotype de « cellule B mémoire » des cellules de LLC et de HCL pourrait suggérer une profonde dérégulation de l'apoptose homéostatique.

En conclusion, l'association HCL-LLC est rare. Sa mise en évidence repose sur un immuno-phénotypage avec un panel élargi, ainsi que sur la curiosité du médecin ou biologiste vis à vis d'une présentation atypique.

Bibliographie :

- [1] Giné E, Bosch F, Villamor N, Rozman M, Colomer D, Lopez-Guillermo A, Campo E, Montserrat E. Simultaneous diagnosis of hairy cell leukemia and chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma : a frequent association ? *Leukemia*, 2002, 16, 1454-1459.
- [2] Caligaris-Cappio F, Pizzolo G, Chilosi M, Bergui L, Smezato G, Tezio L, Morittu L, Malavasi F, Gobbi M, Schwarting, Campana D, Janossi G. Phorbol ester induces abnormal chronic lymphocytic leukemia cells to express features of hairy cell leukemia. *Blood*, 1985, 66, 1035-1042.
- [3] Sokol L, Agosti SJ. Simultaneous manifestation of chronic lymphocytic leukemia (CLL) and Hairy Cell Leukemia (HCL), *Am J Hematol*, 2004, 75, 107-109.
- [4] Garrido P, Jimenez P, Sanchez C, Valero F, Balanzategui A, Almagro M, Lopez P, de Pablos JM, Navarro P, Cabrera A, Gonzalez M, Jurado M, Ruiz-Cabello F. Molecular and flow cytometry characterization during the follow-up of three simultaneous lymphoproliferative disorders : hairy cell leukemia, monoclonal B-cell lymphocytosis, and CD4+/CD8+/-dim T-large granular lymphocytosis. A case report. *Cytometry part B (Clin Cytom)*, 2011, 80B: 195-200.

■ B2- Diagnostic simultané d'une leucémie à tricholeucocytes et d'un lymphome lymphocytaire.

O. Roualdes (1), A. Plesa (2), D. Assouline (3), MC. Jacob (4), D. Treille Ritouet (1)

1. Service d'Hématologie Biologique, Hôpital Edouard Herriot, Lyon
2. Service d'Hématologie Biologique, Centre Hospitalier Lyon Sud, Pierre Bénite
3. Institut Daniel Hollard, Hématologie-Oncologie, groupe mutualiste de Grenoble
4. Laboratoire d'immunologie, CHU Grenoble, Pôle de biologie

Nous rapportons le cas d'une patiente de 69 ans vue en consultation pour un bilan de neutropénie évoluant depuis plusieurs mois entre 0,77 et 0,99G/L, associée à une discrète thrombopénie (113 à 147G/L). La patiente ne présente pas d'anémie. Le bilan hépatique est normal. L'échographie abdominale révèle une discrète hépatomégalie et l'absence de splénomégalie et d'adénopathies.

Dans sa famille, de nombreux cas de pathologies lymphoïdes ont été diagnostiqués. On retiendra 6 cas de LLC chez 6 apparentés au premier degré, un cas de lymphome diffus à grandes cellules chez un descendant, 3 cas de LLC et 2 cas de lymphome de la zone marginale chez des apparentés de second degré.

Le myélogramme montre la présence de 50 à 60% de lymphocytes parmi lesquels 20% environ sont d'aspect pathologique. Parmi cette lymphocytose pathologique, on distingue deux populations : une première est représentée par environ 10% de petits lymphocytes à chromatine condensée, dont l'aspect est celui habituellement observé dans une LLC. Une deuxième population est constituée par environ 10% de tricholeucocytes bien caractéristique : cellules de taille moyenne, cytoplasme plus ou moins abondant, faiblement basophile et à contour discrètement chevelu, noyau parfois réniforme et à chromatine peu condensée. Certains sont un peu plus grands, à noyau très irrégulier. On conclut à l'association d'une tricholeucocytose et d'un lymphome lymphocytaire, l'absence de lymphocytose sanguine (1,1G/L) ne permettant pas d'évoquer une LLC.

L'analyse immunophénotypique sur sang périphérique et sur moelle confirme la présence de ces 2 populations pathologiques. L'une exprime un phénotype type LLC-B avec un score de Matutes à 5/5 (CD5+, CD23+, CD20+) et représente 65% des lymphocytes B du sang périphérique contre 22% seulement des lymphocytes B de la moelle. L'autre correspond

à un clone de tricholeucocytes (CD103+, CD11c+, CD25+, FMC7 fort, CD20 fort, CD22 fort, CD24-, CD38-) représentant 12% des lymphocytes B du sang périphérique et 67% dans la moelle.

Le caryotype médullaire et la cytogénétique mettent en évidence une délétion du locus D13S319 en 13q14. Aucune autre anomalies n'a été révélée, notamment pas de réarrangement IGH ni de délétion ATM et TP53.

Discussion :

Chez cette patiente, nous avons mis en évidence de manière simultanée une leucémie à tricholeucocytes et un clone type LLC-B correspondant à un lymphome lymphocytaire. L'absence de lymphocytose sanguine ne permet pas de retenir une LLC.

Si l'association des leucémies à tricholeucocytes avec d'autres lymphomes non hodgkiniens est bien connue, le diagnostic simultané de ces deux pathologies est rare (1).

Ce diagnostic a été réalisé dans un contexte marqué de pathologies lymphoïdes familiales multiples. Bien qu'il ait été décrit une prédisposition familiale à la LLC avec un risque multiplié par trois si un membre est atteint, aucun facteur prédisposant majeur, qu'il soit environnemental ou génétique, n'a été mis en évidence (2,3). Il a été suggéré à plusieurs membres de cette famille de participer à un programme de recherche à la Pitié Salpêtrière avec inclusion dans le registre des hémopathies lymphoïdes familiales.

Bibliographie

1. Giné E, Bosch E, Villamor N, Rozman M, et al. Simultaneous diagnosis of hairy cell leukemia and chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma: a frequent association? *Leukemia*. 2002 Oct 18;16(8):1454-9.
2. Sellick GS, Catovsky D, Houlston RS. Familial chronic lymphocytic leukemia. *Semin. Oncol.* 2006 Apr;33(2):195-201.
3. Sellick G, Fiellling S, Qureshi M, Catovsky D, International Familial CLL Consortium, Houlston R. Germline mutations in RAD51, RAD51AP1, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD52 and RAD54L do not contribute to familial chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma*. 2008 Jan;49(1):130-5.

■ B3- Double hémopathie lymphoïde : à propos de 3 cas.

E. Benayoun (1), N. Lefèvre (1), A. Plonquet (1), C. Borie (4), J. Moroch (3), J. Dupuis (2), M. Imbert (1), O. Wagner-Ballon (1)

1. Département d'Hématologie et d'Immunologie Biologique, CHU Henri Mondor, Créteil
2. Unité Hémopathies lymphoïdes, CHU Henri Mondor, Créteil
3. Département de Pathologie, CHU Henri Mondor, Créteil
4. Laboratoire d'Hématologie, d'Immunologie et de Biologie des Tumeurs, Hôpital Paul Brousse, Villejuif.

Nous rapportons 3 cas illustrant des associations diverses de deux hémopathies lymphoïdes B matures.

Cas N°1 : Femme de 66 ans suivie pour polyarthrite rhumatoïde et syndrome sec présentant en décembre 2007 une hyperlymphocytose modérée (4,3 G/L) sans particularités cytologiques et sans autres anomalies de l'hémogramme et sans syndrome tumoral. Immunophénotypage : population B CD19+, CD5+, CD20+ faible, CD23+, CD43+, pseudo « polyclonique » (λ : 58% et κ : 42%, d'expression faible). Etude moléculaire : présence de 2 clones exprimant respectivement les chaînes légères λ et κ . Au total, présence concomitante de 2 lymphocytoses B monoclonales. Abstention thérapeutique jusqu'en novembre 2011. Majoration de l'hyperlymphocytose (70,7 G/L) sans cytopénies et apparition de polyadénopathies. Cytologie : présence d'une majorité de lymphocytes de petite taille au noyau régulier, à la chromatine dense, voire mottée et d'un petit contingent (10-15%) de cellules de taille moyenne, au noyau parfois irrégulier, à la chromatine dense, parfois nucléolée. Immunophénotypage : prédominance de la population B λ (80%). Au total, évolution vers 2 LLC B. Inclusion dans le protocole LLC 2007SA. Disparition du syndrome tumoral fin 2012 et normalisation de l'hémogramme avec régression de l'hyperlymphocytose.

Cas N°2 : Femme de 87 ans, hospitalisée en gériatrie en janvier 2012 présentant une anémie microcytaire hypochrome, une hyperleucocytose (10,8 G/L) avec polynucléose neutrophile (9,2G/L) et une lymphocytose à 1,2G/L avec un contingent de cellules lymphoïdes au noyau régulier, à la chromatine dense, au cytoplasme d'abondance variable, modérément basophile et présentant des villosités. Immunophénotypage : présence de 2 populations lymphoïdes : une population CD19 faible, CD5+, CD23+, CD43+, monotypique λ (Matutes à 5), évoquant une lymphocytose B monotypique (35% des ly. B) et une population CD19+, CD5-, CD23-, FMC7+, CD11c+, monotypique λ compatible avec un LNH de la zone marginale (65% des ly. B). Au total, lymphocytose B monoclonale et LNH de la zone marginale. Patient décédée d'une défaillance cardio-pulmonaire en février 2012.

Cas N°3 : Homme de 59 ans adressé en novembre 2011 pour diagnostic d'une hyperleucocytose (13,9 G/L) avec hyperlymphocytose sans anémie ni thrombopénie et sans syndrome tumoral. Formule leucocytaire microscopique : PN 14% ; PE 1% ; Ly. 59% (taille petite à moyenne, noyau régulier, chromatine dense à déliée, parfois nucléolée) ; Mono. 1% ; Tricholeucocytes 25%. Immunophénotypage : présence de 2 populations : une population de tricholeucocytes (37% des ly. B) CD19+, CD20+, CD22+, CD11c+, CD25+, CD103+, monotypique λ et une population CD19+, CD5+, CD23-, monotypique κ pouvant évoquer un LNH du manteau mais absence de t(11;14) en cytogénétique conventionnelle, FISH et biologie moléculaire et surexpression de la cycline D1 d'interprétation difficile en raison de la présence de tricholeucocytes. Au total leucémie à tricholeucocytes et LNH à petites cellules, SAS. Abstention thérapeutique actuellement.

■ B4- Quand un clone peut en cacher un autre.

Gregory Lazarian

Hôpital Avicenne, laboratoire hématologie, Bobigny

Une patiente de 82 ans est adressée en consultation d'hématologie pour des douleurs de l'hypochondre gauche, des sueurs nocturnes depuis 4 semaines et une fièvre à 38°C sans perte de poids. À l'examen clinique, elle présente une splénomégalie de 8 cm de débord costal, sans adénopathie périphérique ni hépatomégalie. Il existe une hypertension portale ancienne avec varices œsophagiennes inexpliquée. Une biopsie hépatique est réalisée et permet de diagnostiquer un lymphome de la zone marginale.

L'hémogramme montre une hyperleucocytose à 15 G/L avec une hyperlymphocytose à 9 G/L, une anémie normocytaire à 11 g/dl et une thrombopénie à 96 G/L. L'examen du frottis sanguin montre que l'hyperlymphocytose est majoritairement constituée de lymphocytes matures monomorphes présentant des villosités cytoplasmiques.

Un myélogramme est réalisé et retrouve une infiltration lymphocytaire de morphologie différente des lymphocytes circulants. Elle est constituée d'une population lymphoïde hétérogène de taille moyenne, à cytoplasme basophile, parfois à différenciation lymphoplasmocytaire et associée à quelques plasmocytes. On retrouve plus rarement des lymphocytes villeux (Photo cytologie).

La caractérisation des lymphocytes par cytométrie en flux montre la présence de deux populations B monotypiques exprimant une chaîne légère kappa, le CD5 est négatif. La première population évoque un lymphome de la zone marginale de type SLVL (CD11c+/bcl2-/CD25-), et la deuxième population présente un profil immunophénotypique correspondant à une macroglobulinémie de Waldenström (CD11c-/bcl2+/CD25+). Il existe par ailleurs un contingent de cellules B monotypiques kappa CD5+ pouvant correspondre soit à une sous population minoritaire du MZL, soit à une troisième population distincte CD5+ (Graphiques cytométrie).

Par ailleurs, la recherche de clonalité B par biologie moléculaire est positive, on retrouve une expression très faible de la cycline D1 et l'analyse cytogénétique réalisée sur le sang montre la présence d'un clone anormal avec une translocation t(11;14) dans 5 mitoses sur 16, faisant suspecter l'association d'un LNH à cellules du manteau aux deux SLPC B CD5-. (Image caryotype + FISH). D'autre part, le séquençage du réarrangement du gène VH des immunoglobulines met en évidence un statut mutationnel des gènes non muté dans un seul clone, ce qui renforce l'hypothèse d'une troisième population MCL.

Des investigations complémentaires n'ont pas pu être réalisées en raison d'une indisponibilité de matériel cellulaire supplémentaire, car l'état général de la patiente s'est aggravé et malgré l'initiation d'un traitement par Rituximab et Bendamustine, elle décède rapidement. Il aurait en effet été intéressant de trier chaque population cellulaire par CMF pour confirmer la coexistence de ces clones et d'effectuer pour chacun d'entre eux : une recherche de clonalité, un séquençage du réarrangement du gène VH des immunoglobulines et une recherche d'expression de la cycline D1 pour en préciser son origine (soit par le clone SLVL, soit par le clone minoritaire CD5+).

Cette observation montre bien l'intérêt de l'analyse cytologique et de l'immunophénotypage des populations lymphocytaires, même lorsqu'un diagnostic anatomopathologique est possible.

■ B5- Coexistence d'une leucémie à tricholeucocytes et d'une lymphocytose b monoclonale (Mbl).

B. Caron- Servan, I. Vinatier, S. Atam-Kassigadou

Laboratoire CERBA, Cergy-Pontoise

Homme de 80 ans, antécédents : hypertension, diabète de type 2 et insuffisance cardiaque.

Juillet 1998 : Hospitalisation au CH de Périgueux pour AEG. Découverte d'une splénomégalie, la NFS montre une pancytopenie et la présence de tricholeucocytes circulants. Traitement mis en place : Interféron pendant 16 mois.

Mars 2012 : admission aux Urgences du CH de Périgueux pour AEG. L'examen clinique retrouve une splénomégalie, la NFS montre à nouveau une pancytopenie, avec monocytopenie. L'immunophénotypage effectué dans notre laboratoire met en évidence deux populations lymphoïdes B monotypiques distinctes en faveur d'une leucémie à tricholeucocytes et d'une lymphocytose B monoclonale de phénotype LLC. La cytologie montre des lymphocytes de petite taille, au noyau régulier, à la chromatine dense, au cytoplasme peu abondant ainsi que d'assez nombreux tricholeucocytes. Traitement : 4 cures de Rituximab (MabtheraND).

Janvier 2013 : consultation chez son médecin traitant pour AEG : persistance de la splénomégalie et de la pancytopenie. L'immunophénotypage réalisé dans notre laboratoire montre à nouveau la lymphocytose B monoclonale et la persistance de rares tricholeucocytes. Traitement : en attente de décision thérapeutique.

ATELIER DE CAS CLINIQUES SUR LE THÈME « HÉMOPATHIES LYMPHOÏDES B MATURES HORS LLC TYPIQUES »

C PATHOLOGIES LYMPHOPLASMOCYTAIRES

■ C1- Un syndrome de Bing-Neel révélant une maladie de Waldenström.

Bouyer Sabrina (1), Dindinaud Elodie (1), Brizard Françoise (1), Tomowiak Cécile (2)

1. Service d'Hématologie biologique, CHU La Milétrie Poitiers
2. Service d'Oncologie hématologique et Thérapie Cellulaire, CHU La Milétrie Poitiers

Mr O. L. est hospitalisé en Neurologie pour exploration d'un tremblement postural évoluant depuis 2009 d'aggravation récente. Le TEP révèle des zones hypermétaboliques au niveau des aires motrices primaires et du cervelet. L'EMG montre une neuropathie sensitivo-motrice sévère à prédominance sensitive, démyélinisante des 4 membres.

La ponction lombaire met en évidence une méningite lymphocytaire (220 leucocytes/mm³) avec hyperprotéinorachie (2,6 g/l), l'examen cytologique des lames de cytopspin permettant d'observer une population lymphoïde constituée d'une majorité de petits lymphocytes associés à quelques cellules lymphoplasmocytaires. L'immunophénotypage confirme la nature clonale de cette infiltration méningée (CD19+ Kappa+ CD5-).

L'étude des protéides sériques mettra en évidence un pic IgM estimé à 2 g/l avec activité anti-MAG et le myélogramme permettra de poser le diagnostic de maladie de Waldenström.

■ C2- Confrontation cytologique avec l'étude anatomopathologique d'un lymphome lympho plasmocytaire à IgA Kappa.

Larbi Rahmoun

EPH Maghnia Wilaya de Tlemcen, Algérie

L'étude cytologique, demeure un élément clef dans l'orientation diagnostic de la pathologie hématologique, et reste le point d'anticipation de toute recherche dans cette discipline.

L'étude cytologique du frottis d'une biopsie ostéo- médullaire a permis de réorienter le diagnostic d'un lymphome lymphocytaire vers un lymphome lympho-plasmocytaire

La liaison étroite entre sCD27, mastocytes médullaire, et la cellule Lympho-plasmocytaire, peut-elle être la base de recherche pour une thérapeutique plus ciblée, qu'est pour la maladie de Waldenström ?

Matériel et méthode :

Patient de sexe masculin âgé de 63 ans au diagnostic, présente une hépato-splénomégalie associée à un syndrome d'hyperviscosité révélé par un trouble d'hémostase et une cardiomyopathie congestive.

NFS; pan cytopénie

Moelle: envahissement par Lympho et lymphoplasmocyte

Biopsie Ostéo médullaire: un frottis sur BM a été réalisé

Electrophorèse des protéines sérique et immun fixation : pic IgA kappa en bêta2 avec un taux de 74,94g/l et diminution modérée de immunoglobuline G et diminution nette immunoglobuline M

Etude anatomopathologique et immun marquage de la carotte a retenu le diagnostic d'un Lymphome Lymphocytaire B

Etude cytologique du frottis sur BM retrouve un envahissement par des Lympho et des lympho-plasmocyte et présence de nombreux mastocytes.

Résultat :

Progression de la maladie s/s protocole R-FC avec apparition d'adénopathies superficielles et intolérance au rituximab
Après la relecture du frottis sur BM, le diagnostic d'un lymphome Lympho plasmocytaire à IgA kappa est retenu, et le patient est actuellement en rémission maximale après 2cures CHOP suivies de 06cures R-CHOP.

Conclusion :

Le lymphome lympho-plasmocytaire à IgA reste rare, selon l'étude cytologique de ce lymphome et la décharge des mastocytes s/s rituximab, la recherche du sCD27 par méthode Elisa pourrait montrer le rôle fonctionnel dans la pathogénèse de ce lymphome.

ATELIER DE CAS CLINIQUES SUR LE THÈME « HÉMOPATHIES LYMPHOÏDES B MATURES HORS LLC TYPIQUES »

D SRPL / HCL_v

■ D1 - Le lymphome splénique diffus de la pulpe rouge avec lymphocytes villeux.

L. Baseggio, A. Traverse-Glehen, F. Berger, E. Callet-Bauchu, S. Gazzo, D. Morel, M. Ffrench, JP. Magaud G. Salles, P. Felman

Sous le terme de lymphome splénique diffus de la pulpe rouge avec lymphocytes villeux (SDRPL), nous avons décrit une entité, définie d'une part par la présence au niveau du sang périphérique de lymphocytes villeux (LV) typiques (fig 1) à un taux significatif (supérieur à 20% de la population lymphomateuse) et d'autre part par une infiltration diffuse au niveau de la pulpe rouge splénique [1]. Cette entité est à rattacher à l'entité provisoire « splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma » décrite dans les lymphomes spléniques inclassables de la classification OMS2008, et se distingue du lymphome splénique de la zone marginale classique (LZMS) tant du point de vue clinique, que morphologique, immunologique et cytogénétique. Les patients sont en moyenne plus âgés que dans le LZMS (97% de patients de plus de 60 ans vs 59%), et se présentent avec une splénomégalie sans adénopathies périphériques.

Cytologiquement, la population lymphomateuse apparaît plus homogène que celle du LZMS, et se définit par la présence de vrais LV (>20%). Les caractéristiques cellulaires du LV dans le sang périphérique incluent un noyau rond à chromatine mottée et un cytoplasme basophile d'abondance variable le plus souvent moyenne, présentant des villosités franches réparties en un ou plusieurs pôles (fig 1).

Immunologiquement (fig 2), les cellules lymphomateuses sont généralement CD5/CD23/CD43 négatives, et diffèrent de celles du LZMS par une expression plus forte des CD11c/CD22/CD20/CD76, une négativité fréquente des CD38/CD24/CD27 ce qui nous a permis d'établir un score basé sur 5 de ces paramètres (1 point attribué en cas de forte positivité des CD22/CD11c/CD76, et de négativité des CD38/CD27) ; un score supérieur à 3 étant plus en faveur plus d'un SDRPL que d'un LZMS [2]. Le CD103 peut être positif (20-30% des cas) par contre les CD123/CD25 sont habituellement négatifs. L'expression du CD180, statistiquement plus importante dans le SDRPL que dans le LZMS apparaît également intéressante pour différencier un SDRPL d'un LZMS [3].

Le caryotype ne met que rarement en évidence des anomalies chromosomiques (34%), ce qui est un autre élément distinct du LZMS. Par contre les anomalies retrouvées sont celles du LZMS avec en particulier des délétions en 7q, des trisomies 18 et trisomie en 3q. Les gènes IGVH sont fréquemment mutés (79%) avec un biais d'utilisation des segments VH3-23 et VH4-34, là encore différents de ceux utilisés habituellement dans le LZMS.

Par contre, un certain chevauchement morphologique, immunologique et moléculaire existe entre le SDRPL et la forme variante des leucémies à tricholeucoytes (HCL-V) suggérant que les cas de HCL-V puissent correspondre à des SDRPL en progression tumorale (fig 3).

En conclusion, le SDRPL apparaît comme une entité distincte du LZMS mais également de la HCL tant du point de vue pronostic que de réponse au traitement justifiant son identification.

[1] Traverse-Glehen A et al., *Blood* 2008;111(4):2253-2260 ; [2] Baseggio L et al., *Haematologica* 2010;95(4):604-12 ; [3] Miguet et al., *Leukemia* 2015.

■ D2 - Une tricholeucémie de présentation atypique.

Bouyer Sabrina (1), Maud Voldoire (2), Dos Santos Frédéric (1), Brizard Françoise (1), Delwail Vincent (2)

1. Service d'Hématologie biologique, CHU La Milétrie, Poitiers

2. Service d'Oncologie hématologique et Thérapie Cellulaire, CHU La Milétrie, Poitiers

Mme D. J. est hospitalisée pour exploration d'une tuméfaction frontale droite évoluant depuis 2 mois. Le TDM retrouve une lésion ostéolytique endo et exo-crânienne. L'analyse histopathologique de cette lésion conclue dans un premier temps à un LNH B de haut grade pour lequel la patiente reçoit en urgence 2 cures de chimiothérapie (CEP).

Une BOM réalisée dans le cadre du bilan d'extension évoque une infiltration par un LNH de bas grade de type MALT, mais la relecture réalisée à Bordeaux conclue à une leucémie à tricholeucocytes. Un myélogramme nous est alors adressé qui met effectivement en évidence environ 6% de tricholeucocytes (CD11c+ CD25+ CD103+ CD123+). La relecture des biopsies de la lésion frontale permettra de confirmer la nature tricholeucocytaire de cette infiltration. Le traitement par cladribine (LITAK®) a rapidement entraîné une rémission clinique complète.

■ D3 - Lymphocytes villeux ou tricholeucocytes variants ?

S. Sep Hieng, M. Tétégan, L. Calmette, JY. Peltier

Laboratoire d'hématologie, CHI Poissy-St Germain

Mr F, 85 ans, est hospitalisé pour un hématome thalamique droit. L'hémogramme réalisé est le suivant : GB = 8,24 G/l, Hb = 16,6 g/dl, VGM = 86 fl, plaquettes = 263 G/l, PNN = 58 % (4,78 G/l), PNE = 12% (0,99 G/l), PNB = 1 % (0,08 G/l), L = 4 % (0,33 G/l), M = 9% (0,74 G/l), lymphocytes atypiques = 6 % (0,49 G/l). Ces lymphocytes d'aspect chevelu montrent un noyau excentré, avec une chromatine condensée, un nucléole parfois visible, et un cytoplasme faiblement basophile. L'immunophénotypage lymphocytaire montre une population monoclonale lambda, CD5-, CD23-, CD20+, FMC7+, CD22+ (fort), CD79b+, CD25+/-, CD11c+, CD103+, CD38-, CD43-, CD10-. La présentation indolente, l'absence de cytopénies et l'absence de monocytopenie pouvaient nous orienter vers un lymphome de la zone marginale à lymphocytes villeux (SLVL). Cependant, les caractéristiques cytologiques et immunophénotypiques nous ont fait évoquer une leucémie à tricholeucocytes dans sa forme variante (HCL-v). Le patient n'a pas bénéficié d'une prise en charge spécifique compte-tenu de son âge, de l'accident vasculaire cérébral et de ses antécédents de maladie d'Alzheimer. Il décède quelques mois après, des suites de son accident vasculaire cérébral.

Présentation clinique :

Monsieur F, 85 ans, se présente aux urgences pour une confusion d'apparition brutale sur un hématome thalamique droit. Il a comme antécédents majeurs une cardiopathie ischémique, une HTA, et une maladie d'Alzheimer.

Hémogramme : GB = 8,24 G/l, Hb = 16,6 g/dl, VGM = 86 fl, plaquettes = 263 G/l. La formule est la suivante : PNN = 58 % (4,78 G/l), PNE = 12 % (0,99 G/l), PNB = 1 % (0,08 G/l), L = 14 % (1,15 G/l), M = 9 % (0,74 G/l), lymphocytes atypiques = 6 % (0,49 G/l). Ces lymphocytes d'aspect chevelu montrent un noyau excentré, avec une chromatine condensée, un nucléole parfois visible, et un cytoplasme faiblement basophile.

Cliniquement, il n'a pas été mis en évidence d'hépatosplénomégalie ni de syndrome tumoral ganglionnaire.

Examens complémentaires : L'immunophénotypage lymphocytaire sanguin montre une population monotypique lambda, CD5-, CD23-, CD20+, FMC7+, CD22+ (fort), CD79b+, CD25+/-, CD11c+, CD103+, CD38-, CD43-, CD10. L'électrophorèse des protéines montre une augmentation des alpha-1 et alpha-2 globulines, sans hypogammaglobulinémie, ni pic monoclonal.

Evolution : Compte-tenu du mauvais pronostic neurologique et devant l'absence de cytopénies, les investigations n'ont pas été poursuivies. Le patient est décédé des suites de son accident vasculaire cérébral.

Conclusion / Discussion : La présentation indolente, l'absence de cytopénies et de monocytopenie pouvaient nous orienter vers un SLVL. Mais la grande taille des cellules, leur noyau excentré de forme ovalaire, et la basophilie du cytoplasme nous ont fait évoquer des tricholeucocytes, mais avec des caractéristiques morphologiques particulières. En effet, la chromatine apparaît mottée, un nucléole est parfois visible, et les projections cytoplasmiques sont irrégulièrement réparties autour du noyau. L'immunophénotypage lymphocytaire montrant une forte intensité du CD22 contrastant avec un CD79b plus faible, la positivité du CD11c, du CD103 était compatible avec des tricholeucocytes, mais l'expression du CD25 est négative. L'ensemble de ces caractéristiques cytologiques et immunophénotypiques nous ont fait évoquer une HCL-v. L'exploration médullaire aurait pu étayer le diagnostic, mais elle n'a pas été souhaitée par le clinicien étant donnée l'absence de thérapeutique spécifique envisagée chez ce patient, dont le pronostic était lié à son accident vasculaire cérébral. Aucun diagnostic de certitude n'a pu être retenu pour monsieur F.

La HCL-v figure dans la classification OMS 2008 comme une entité provisoire, distincte de la HCL. [1][2] Il s'agit d'une pathologie rare qui représente 0,4 % des syndromes lymphoprolifératifs chroniques. [3] Si la distinction entre la HCL-v, la HCL et le SLVL peut être difficile du fait de certaines caractéristiques biologiques et cliniques communes, elle reste néanmoins importante pour la thérapeutique et le pronostic. [4]

Dans la HCL-v, la médiane d'âge des patients atteints est de 71 ans, et affecte autant les hommes que les femmes. [3] Il existe le plus souvent une hyperleucocytose, mais dans 10 % des cas, l'hémogramme peut montrer un taux de leucocytes normal avec des cellules atypiques circulantes sur le frottis sanguin. L'absence de neutropénie et de monocytopenie est constante. [5] La splénomégalie est retrouvée dans la majorité des cas. [2-5] Cytologiquement, les cellules sont de taille moyenne à grande avec un noyau rond ; la présence d'un nucléole proéminent et d'un cytoplasme basophile peut faire évoquer des prolymphocytes. [3] Classiquement, les lymphocytes villeux sont de plus petite taille, montrent une chromatine condensée, un cytoplasme basophile et des villosités polaires. Sur le plan immunophénotypique, les tricholeucocytes expriment fortement les chaînes légères, le CD20, le CD22, le CD11c, le CD25, le CD103 et le CD123. Les tricholeucocytes variants diffèrent des tricholeucocytes par l'absence d'expression CD123, et du CD25 [4], même s'il a été décrit un CD25 était positif dans 6 % des cas. [5] L'expression du CD103 est positive dans deux tiers des cas. [2] Dans le SLVL, le CD5 peut être positif, mais le CD103 est généralement négatif. [6] Dans ces trois pathologies, les cellules n'expriment pas le CD5, CD23 et CD10, mais des variations existent. [4] Les HCL-v qui n'expriment ni le CD25 ni le CD103 peuvent être difficiles à distinguer du SLVL. Un score immunologique a été proposé par Matutes, reposant sur le CD103, CD11c, CD25 et le CD123. Un score à 4 est retrouvé dans 98 % des HCL, alors que dans les HCL-v et les SLVL, il est généralement à 0 ou 1. [7] Pour notre patient, nous n'avions pas le CD123 nécessaire à l'établissement de ce score.

L'aspiration médullaire est facile dans la HCL-v avec une moelle normo- ou hypercellulaire. L'examen histologique de la biopsie ostéo-médullaire montre une infiltration intrasinusoidale et interstitielle. La fibrose réticulinique est peu présente. [4] L'examen histologique de la rate montre une infiltration intrasinusoidale de la pulpe rouge dans la HCL et la HCL-v ; dans le SLVL, la pulpe blanche est envahie. [4] Dans la HCL-v, le marquage de l'annexine A1 est négatif, de même que l'activité de la phosphatase acide tartrate résistante. Parmi les anomalies cytogénétiques retrouvées, la délétion 17p est associée à un mauvais pronostic [8], mais aucune anomalie spécifique n'a été mise en évidence. [2] Le profil des gènes des chaînes lourdes est non muté, contrairement à la HCL. [8] L'utilisation du réarrangement VH4-34 est fréquente dans la HCL-v, et est associée à une survie plus courte que dans la HCL, et ceci indépendamment de son phénotype variant. [9] La HCL-v est réputé plus agressive que la HCL, et les traitements classiques (pentostatine, cladribine) de la HCL sont souvent moins efficaces. [2][8] La splénectomie a été proposée comme traitement palliatif et a montré des bonnes réponses clinique et hématologique chez deux tiers des patients, [5] car elle corrige les cytopénies et réduit la masse tumorale [8]. L'irradiation splénique peut être proposée chez les patients âgés à haut risque chirurgical. Les anticorps monoclonaux (rituximab, alemtuzumab et immunotoxine BL22) peuvent aussi être utilisés. [2][8] Ainsi, le diagnostic d'une HCL-v se fonde sur un faisceau d'arguments cytologiques, immunophénotypiques et histologiques.

Références :

- [1] Piris M, Foucar K, Mollejo M, Campo E, Falini B. Splenic B-cell lymphoma/leukemia unclassifiable. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al., editors. *World Health Organization classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: IARC Press; 2008. p. 191-2.
- [2] X. Troussard. E. Cornet. Leucémie à tricholeucocytes. *Hématologie* 2010 ; 16(6) : 452-42.
- [3] Wang X, Spielberger R, Huang Q. Hairy cell leukemia variant, a new entity of the WHO 2008. *J Clin Oncol*. 2011 Dec 20;29(36):e864-6
- [4] Shao H, et al. Distinguishing hairy cell leukemia variant from hairy cell leukemia: Development and validation of diagnostic criteria. *Leuk Res* (2013), In Press, Corrected Proof, <http://dx.doi.org/10.1016/j.leukres.2012.11.021>
- [5] Matutes E, Wotherspoon A, Catovsky D. The variant form of hairy-cell leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2003;16:41-56
- [6] Ocio EM, Hernandez JM, Mateo G, Sanchez ML, Gonzalez B, Vidriales B, et al. Immunophenotypic and cytogenetic comparison of Waldenström's macroglobulinemia with splenic marginal zone lymphoma. *Clin Lymphoma* 2005;5:241-5
- [7] Matutes E. Immunophenotyping and differential diagnosis of hairy cell leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2006;20:1051-63
- [8] Robak T. Hairy-cell leukemia variant: recent view on diagnosis, biology and treatment. *Cancer Treat Rev*. 2011 Feb;37(1):3-10
- [9] Arons E, Suntum T, Stetler-Stevenson M, Kreitman R.J. VH4-34+ hairy cell leukemia, a new variant with poor prognosis despite standard therapy. *Blood*. 2009 Nov 19;114(21):4687-95.

ATELIER DE CAS CLINIQUES SUR LE THÈME « HÉMOPATHIES LYMPHOÏDES B MATURES HORS LLC TYPIQUES »

E LYMPHOMES FOLLICULAIRES

■ E1 - Lymphome folliculaire avec dissémination sanguine à propos d'une série de 37 cas.

Lucile Baseggio

Unité d'Hématologie Cellulaire-Secteur Immunophénotypage, Laboratoire d'Hématologie Cellulaire
Centre de Biologie et d'Anatomie Pathologique Sud - Bâtiment 3D, Hospices Civils de Lyon/Groupement
Hospitalier Sud, Pierre-Bénite

Le lymphome folliculaire (LF) est un lymphome fréquent de pronostic variable. Si la dissémination sanguine est rare (10%), elle n'est pas exceptionnelle et nous avons récemment montré que les LF en phase leucémique (LF-PL) présentent des caractéristiques clinico-biologiques différentes des LF sans phase leucémique (patient plus jeune, présence d'une anémie, score FLIPI élevé) et surtout un pronostic plus sévère (survie sans progression et survie globale) quand l'infiltration lymphomateuse est supérieure à 4 10⁹/L.

Dans notre série de LF avec dissémination sanguine (n=37), dépistés entre 2000 et 2011, le nombre de cas avec lymphocytose (définie comme supérieure à 4 10⁹/L) ou sans lymphocytose est quasi-identique (17 et 20 respectivement), par contre on observe des différences entre les deux présentations. Les cas de LF-PL sans lymphocytose sont plus fréquents chez l'homme (sex ratio 2.3 :1 vs 1.1:1) et chez les sujets jeunes (inf. à 60 ans : 16/20 [80%] vs 8/17 [48%]), et sont plus fréquemment associés à une thrombopénie (inf. à 150 10⁹/L : 11/20 [55%] vs 6/17 [35%]) et à une splénomégalie (13/20 [65%] vs 10/17 [58%]). Il n'existe pas de corrélation entre le taux de la lymphocytose et la thrombopénie, qui paraît à rapporter à la splénomégalie plutôt qu'à l'infiltration médullaire évaluée par la BOM, identique dans les 2 groupes. En cas d'absence de lymphocytose, si l'automate de NFS ne génère aucune alarme qualitative sur les 11 cas évaluable, une alarme quantitative est observée dans 7 cas (thrombopénie isolée n=5, thrombopénie associée à une anémie n=3), entraînant la révision de la lame de sang.

Du point de vue cytologique, dans la majorité de ces cas (n=29), le diagnostic de LF est aisé pour un cytologiste expert qu'il y ait ou non une lymphocytose. Si à faible grossissement, la population lymphomateuse apparaît homogène, elle est souvent plus hétérogène à fort grossissement, mais est constituée dans la grande majorité des cas d'un contingent prédominant de très petites cellules lymphoïdes au contour nucléaire cabossé, à la chromatine très compacte, non mottée et sans cytoplasme visible (Fig1). Les clivages sont souvent réduits à une échancrure en « coup d'ongle », parfois plus profondes, pouvant donner un aspect « en grain de café » (Fig1). Dans une minorité de cas (n=8), l'aspect cytologique n'oriente pas vers un LF, et ne permet pas de trancher entre LF et LZM ou LLC atypique (Fig1). Pour ces derniers cas, l'apport diagnostique de l'immunophénotypage a été primordial puisque tous ces cas étaient CD10 positifs.

Du point de vue immunologique, le profil immunologique des LF-PL est celui attendu dans le LF à savoir une co-expression des CD10/CD38 associée à une faible expression du CD19, et une absence d'expression des CD5 et CD43 (Fig2). S'il a été décrit des formes de LF CD10 négatives elles restent néanmoins rares (moins de 5%). Dans cette série le nombre de cas CD10 négatif est de 22% (8/37). Sept de ces 8 cas CD10 négatifs ont eu un marquage par IHC sur coupes ganglionnaires (CD10 négatif n=1, CD10 positif partiel n=2, CD10 positif fort n=4). Cette discordance entre CMF et IHC peut s'expliquer en partie par le clone de CD10 et le fluorochrome (FITC) utilisés en CMF. Toutefois ces cas CD10 négatifs présentent des caractéristiques particulières puisqu'ils sont observés plus fréquemment dans les formes sans lymphocytose (87.5% vs 38%) et sont plus fréquemment CD38 négatifs (80% vs 14% cas CD10 positif), mais l'expression du CD19 reste faible comme pour les LF CD10 positifs. Dans tous ces cas CD10 négatifs, l'expertise cytologique du frottis sanguin a conclu sans difficulté à une dissémination par un LF (Fig1).

En conclusion cette étude souligne l'importance de l'expertise cytologique et immunophénotypique au niveau du sang permettant de détecter les disséminations des lymphomes folliculaires, cette détection pouvant, à côté de son intérêt diagnostique lorsque le lymphome n'est pas encore connu, avoir aussi une valeur pronostique, et permettre une prise en charge thérapeutique adaptée des formes de plus mauvais pronostic.

■ E2 - Lymphomes folliculaires à la paillasse d'Hématologie : plusieurs niveaux de difficultés diagnostiques.

Franck Trimoreau, Vincent Leymarie, Jean Feuillard

Laboratoire d'Hématologie, CHU Dupuytren, Limoges

Le lymphome folliculaire (LF) est extrêmement fréquent dans le recrutement anatomo-pathologique mais assez rare dans celui d'un laboratoire d'Hématologie, cytologie ganglionnaire exceptée. L'aspect morphologique est habituellement typique, sous la forme de petites cellules à noyau clivé en « grain de café ». Toutefois il arrive que le diagnostic de ce type de lymphome soit délicat pour le cytologiste dans certaines circonstances et présentations. Dans le sang, la difficulté peut venir d'une proportion limitée de petites cellules clivées, associées à des éléments d'allure plus banale, posant le problème du diagnostic différentiel avec une LLC, surtout si le phénotype immunologique est également inhabituel (CD5+ faible, chaîne légère de surface d'intensité faible, négativité du CD10 sur les cellules circulantes, alors que dans le même temps les cellules ganglionnaires sont CD10+). Inversement, une leucémie lymphoïde chronique à cytologie atypique particulièrement riche en cellules à noyau encoché peut orienter à tort vers l'hypothèse d'un LF. Dans d'autres cas, la discussion a lieu avec un lymphome à cellules du manteau, en raison d'une proportion élevée de grandes cellules circulantes. Sur frottis médullaires, la présence augmentée d'hématogones n'est pas rare au moment du bilan d'extension du LF au diagnostic et peut tromper avec une localisation spécifique, rendant la cytométrie ou la biologie moléculaire indispensable. Un infiltrat médullaire nodulaire peut générer des images d'ilots très cohésifs, centrés sur des cellules folliculaires, pouvant mimer une localisation métastatique. Sur frottis ganglionnaires, la difficulté peut venir d'une origine tissulaire inattendue (« type MALT » : parotide, orbite, ...) ou d'aspects très cellulaires et cohésifs rendant peu visible i) la prolifération des cellules folliculaires dendritiques, littéralement "recouvertes" ii) les images d'encoches nucléaires sur les cellules lymphomateuses. Dans les formes riches en grandes cellules, le diagnostic cytologique peut hésiter avec un lymphome B diffus à grandes cellules. Enfin, de nombreuses "deuxièmes" hémopathies peuvent survenir chez un patient déjà connu pour un lymphome folliculaire, comme dans notre expérience des leucémies aiguës lymphoblastiques, des lymphomes à cellules de Burkitt, des maladies de Hodgkin.

■ E3 - LNH folliculaire, une pathologie rare avant 45 ans.

C. Brumpt (1), E. Klein (1), E. Ronez (1), JP. Brouland (2), J. Gellen Dautremer (3), S. Balkaran (4), L. Drouet (1)

1. Service d'Hématologie biologique, Hôpital Lariboisière, Paris
2. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôpital Lariboisière, Paris
3. Service de Médecine Interne, Hôpital Lariboisière, Paris
4. Service d'Hématologie Oncologie, Hôpital St Louis, Paris

Les lymphomes folliculaires représentent environ 20% des lymphomes. Ils surviennent habituellement chez l'adulte âgés (âge médian 60 ans, exceptionnel avant 45ans). Nous rapportons 2 cas de lymphomes folliculaires survenant chez des adultes jeunes.

Cas 1 patiente de 33 ans consulte pour douleurs abdominales. Elle présente à l'examen clinique une hépato-splénomégalie et des adénopathies inguinales. Diagnostic sur la cytoponction ganglionnaire, confirmé par la biopsie de LNH folliculaire en voie de transformation Cas 2 patient de 42 ans hospitalisé pour polyadénopathies. Il présente à l'examen clinique une hépatosplénomégalie. Sur la NFS hyperlymphocytose isolée à 9,6G/L constituée de lymphocytes mûrs souvent encochés posant le diagnostic de lymphome folliculaire leucémisé, confirmé par l'immunophénotypage des lymphocytes sanguins, la cytoponction puis la biopsie ganglionnaire.

■ E4 - Un étrange lymphome folliculaire.

L. Monier (1), C. Mayeur-Rousse (1), A. Ittel (1,2), C. Gervais (1,2), L. Fornecker (3), A. Galois (1), L. Mauvieux (1)

1. Laboratoire d'Hématologie, CHU de Haute-pierre, Strasbourg
2. Laboratoire de Cytogénétique d'Alsace
3. Service d'Hématologie et Oncologie, CHU de Haute-pierre, Strasbourg

Introduction : Patiente de 47 ans suivie en neurologie pour épilepsie pharmaco-résistante.

PRÉSENTATION CLINIQUE Lors d'une hospitalisation pour réévaluation de son épilepsie, découverte d'une hyperlymphocytose avec multiples adénopathies superficielles.

Cytologie : La NFS montre une hyperleucocytose à 26 G/L, une thrombopénie à 74 G/L avec anémie à 10 g/dL, normochrome normocytaire arégénérative et 81% de cellules lymphomateuses circulantes. Ces cellules sont de taille petite à moyenne, au rapport nucléocytoplasmique élevé, au noyau irrégulier voire folié, présentant parfois une incisure étroite.

Immunophénotypage :

L'analyse immunophénotypique retrouve environ 89% de cellules CD45+fort monotypiques lambda (forte intensité) CD5- CD10- CD23+partiel FMC7+ CD20+ (forte intensité) CD22+ (intensité moyenne) CD79b+ (forte intensité) CD38+ IgM++/D+. Score de Matutes à 1 (CD23+).

ATELIER DE CAS CLINIQUES SUR LE THÈME « HÉMOPATHIES LYMPHOÏDES B MATURES HORS LLC TYPIQUES »

F ANOMALIES GENETIQUES PARTICULIERES

■ F1- Les syndromes lymphoprolifératifs B chroniques non folliculaires avec t(14 ;18) ou une de ses variantes. Etude de 37 cas.

Marie-Odile Geay (1), Lucile Baseggio (1,4), Sophie Gazzo (1,4), Françoise Berger (2,4), Alexandra Traverse-Glehen (2,4), Martine Ffrench (1,4), Sandrine Hayette (1,4), Evelyne Callet-Bauchu (1,4), Aurélie Verney (4), Dominique Morel (1,4), Laurent Jallades (1,4), Jean-Pierre Magaud (1,4), Gilles Salles (3,4), Pascale Felman (1,4).

1. Service d'Hématologie Biologique
2. Service d'Anatomie-pathologique
3. Service d'Hématologie Clinique
Centre Hospitalier Lyon-Sud, Pierre-Bénite, Hospices Civils de Lyon
4. UMR5239 Pathologies des cellules lymphoïdes, Université Claude Bernard, Lyon.

Au sein des syndromes lymphoprolifératifs (SLP) indolents, la recombinaison IG/BCL2, considérée comme marqueur cytogénétique du lymphome folliculaire, a été rapportée dans quelques cas de leucémie lymphoïde chronique (LLC) et d'exceptionnels lymphomes de la zone marginale (LZM) extra-ganglionnaires. Nous présentons ici l'analyse de 37 porteurs d'une t(14 ;18) ou d'une de ses variantes identifiés au sein d'une série consécutive de 993 SLP non-folliculaires. L'ensemble des données cytologiques, phénotypiques, cytogénétiques et histologiques disponibles a été revu. L'analyse cytologique a été réalisée sur un décompte de 100 cellules lymphoïdes considérées comme lymphomateuses, classées en trois catégories cellulaires : lymphocytes de type LLC, lymphocytes atypiques incluant les cellules lymphoplasmocytoïdes et/ou à noyau encoché, et prolymphocytes. L'analyse par FISH a été associée à l'analyse caryotypique pour confirmer l'implication de BCL2 et pour rechercher les principales aberrations chromosomiques retrouvées chez les patients porteurs de LLC (+12, del13q, del11q, del17p). Après reclassement des cas à partir de l'ensemble de ces données, un réarrangement IG/BCL2 était observé dans 22 cas de LLC incluant 7 cas de lymphocytose B monoclonale (LBM), 6 cas de lymphomes lymphocytaires (LL), 1 cas de LZM splénique (LZMS) et 8 cas de SLP inclassables avec les critères utilisés (formes frontières LLC/LZM). Au sein du groupe LLC/LBM, des atypies morphologiques sont présentes dans 9 cas (41%). Vingt patients ont un score de Matutes caractéristique d'une LLC (≥ 4), 4 d'entre eux présentaient une négativité du CD5 ou du CD23. Les 2 autres patients ont respectivement un score de 3 (CD5+, CD23+, CD43+) et de 1 (classement en LLC sur preuve histologique). Une trisomie 12 est présente dans 59% des cas de LLC/LBM.

Cette étude confirme que le remaniement IG/BCL2 est un évènement rare dans les SLP non-folliculaires (3%). Dans les cas de LLC/MBL, sa présence est associée de façon remarquable à un statut VH muté et à une trisomie 12, sans impact pronostique significatif sur la survie globale. En revanche, les atypies cytologiques et phénotypiques observées apparaissent liées à la présence de la trisomie 12.

Par ailleurs, l'identification de deux patients VH non mutés (un cas LLC et un cas LL) où la t(14 ;18) apparaît comme un évènement secondaire présent dans un clone dérivé, conduit à envisager que la t(14 ;18) puisse survenir dans les cellules de la zone marginale. De plus, le faible taux de mutations de BCL6, l'absence de mutation de FAS, et l'absence de mutations de BCL6 chez certains patients IGVH mutés, sont autant d'arguments en faveur d'une origine possible de la LLC à partir de cellules B mémoires provenant de la zone marginale.

■ F2- Les syndromes lymphoprolifératifs chroniques B leucémiques hyperploïdes : de la cytologie à la cytogénétique.

Catherine Settegrana (1), Elise Chapiro (1), Magali Le Garff-Tavernier (1), Adrien Cosson (2), Véronique Leblond (3), Florence Nguyen-Khac (1), Frédéric Davi (1), Hélène Merle-Béral (1), Karim Maloum (1)

1. Service d'Hématologie biologique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris.
2. INSERM UMRS 872
3. Service d'Hématologie clinique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris.

De nombreuses anomalies cytogénétiques récurrentes sont retrouvées dans les syndromes lymphoprolifératifs chroniques B (SLPC-B). L'hyperdiploïdie a rarement été rapportée dans ces hémopathies à l'exception du lymphome à cellules du manteau (Ott et al., Blood, 1997).

Nous avons étudié les aspects morphologiques, cytogénétiques et moléculaires d'une série de 6 cas de SLPC-B : 4 leucémies lymphoïdes chroniques (LLC) et 2 lymphomes de la zone marginale (LZM).

Patients : l'âge médian au diagnostic est de 62 ans (49-85), le sex-ratio est de 1. Quatre patients présentaient une LLC (score de Matutes à 5 dans 2 cas et à 3 dans 2 cas). Au diagnostic, un patient était en stade A, 2 patients en stade B et 1 patient en stade C. Deux patients présentaient un LZM leucémique.

Morphologie : une hyperlymphocytose de 4.9 à 90 G/L était présente dans tous les cas. Parmi les cellules lymphoïdes, il a été noté la présence de cellules de taille moyenne à grande, à chromatine anormalement hypercondensée, à noyau arrondi ou irrégulier, parfois nucléolé, représentant 6 à 81% de la formule leucocytaire. Ces cellules lymphoïdes étaient comptées par les analyseurs automatiques (XE-2100 et XE-5000, Sysmex® et Advia 2120, Siemens®) en polynucléaires basophiles (6 à 86%). Il s'agissait dans tous les cas de fausses basophilies. Le pourcentage de polynucléaires basophiles donné par l'automate était fortement comparable à celui des cellules lymphoïdes hyperdenses observées au microscope.

Cytogénétique : un caryotype et une étude en FISH ont été réalisées dans tous les cas en utilisant les sondes CEP12, 13q14, TP53, ATM, 6q21, BCL3 et IGH. Le pourcentage de cellules hyperploïdes par FISH variait de 2 à 90% et était comparable à celui des cellules lymphoïdes hyperdenses de la formule leucocytaire réalisée au microscope, et au nombre de polynucléaires basophiles comptés par l'automate. Les anomalies associées à l'hyperploïdie étaient nombreuses avec, en particulier, une association fréquente à une translocation t(14;19) impliquant les gènes BCL3 et IGH, toujours associée à une trisomie 12 et à une del6q, dans 3/4 cas de LLC. Par ailleurs, une del17p a été retrouvée dans un cas de LLC et un cas de LZM ; une del6q a été observée dans 3 cas de LLC et un LZM ; une del11q a été retrouvée dans 2 cas de LLC. A noter qu'une del13q n'a été observée que dans un cas de LLC.

Autres anomalies moléculaires : des mutations des gènes SF3B1 (exons 14-16), XPO1 (exons 14-15), NOTCH1 (exon 34), MYD88 (exon 5) et TP53 (exons 4 à 10) ont été recherchées. Seul un patient (avec une del17p), était hétérozygote pour une mutation de TP53 (exons 5-6, H193L (CAT/CTT)).

Une des conclusions principale de de travail préliminaire est la forte corrélation entre l'aspect morphologique, les résultats des analyseurs d'Hématologie cellulaire et l'hyperdiploïdie dans les syndromes lymphoprolifératifs B chroniques. Cet aspect morphologique particulier associé à une fausse basophilie doit faire rechercher une hyperdiploïdie.

14h-17h30

Coordonnateurs : Valérie Bardet, Franck Geneviève, Jean-François Lesesve

ATELIER DE CAS CLINIQUES SUR LE THÈME « HÉMOPATHIES LYMPHOÏDES B MATURES HORS LLC TYPIQUES »

G CYTOMETRIE EN FLUX

■ G1- Evaluation des marqueurs CD160 et CD200 pour la diagnostic des syndromes lymphoprolifératifs.
Stéphanie Tardy, Pierre Feugier, JF. Lesesve

Services d'Hématologie Clinique et Biologique, CHU Nancy

Introduction :

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est habituellement diagnostiquée grâce aux caractéristiques morphologiques et immunophénotypiques des lymphocytes sur sang circulant des patients. Le score de Matutes est particulièrement utile pour établir le diagnostic différentiel entre LLC et autres syndromes lymphoprolifératifs B (SLP-B). Cependant, quelques cas de LLC peuvent se présenter avec un immunophénotypage et/ou des caractéristiques morphologiques atypiques faisant évoquer un diagnostic incertain. Le CD160 est une molécule de surface cellulaire naturellement exprimée par les cellules Natural Killer (NK), et une sous population de lymphocyte T. Le CD200, glycoprotéine transmembranaire est normalement exprimée par les lymphocytes B et T activés, les cellules dendritiques, les cellules souches, les cellules endothéliales, les neurones, à la différence des cellules NK (Natural Killer) qui ne l'expriment pas. Ces deux molécules, CD160 et CD200, non retrouvées à la surface des lymphocytes B normaux, sembleraient être exprimées de façon privilégiée par les lymphocytes B de LLC. Cela a constitué le rationnel de notre travail, cherchant à démontrer l'intérêt diagnostique de ces deux marqueurs en cytométrie en flux dans le bilan d'un SLP-B. L'étude de leur expression pourrait permettre d'affiner des diagnostics parfois difficiles et de ce fait de proposer la thérapeutique la plus appropriée aux patients.

Matériels et méthodes :

En utilisant une analyse par cytométrie en flux, nous avons évalué l'expression du CD160 et du CD200 des cellules néoplasiques B de 100 patients atteints de LLC ou autre syndrome lymphoprolifératif B avec phase leucémique (Lymphome de la zone marginale, lymphome à cellules du manteau, lymphome folliculaire..), ainsi que des cellules B de 9 témoins.

Résultats :

Une large majorité (75,9%) des patients atteints de LLC expriment le CD200 alors que seulement 5 des 42 patients (11,9%) présentant un autre SLP-B expriment ce marqueur. Ces résultats permettent d'obtenir pour le CD200, une sensibilité de 79% et une spécificité de 95% dans le diagnostic positif d'une LLC. Concernant l'expression du CD160, elle est positive chez 51,7% des patients LLC et dans seulement 7,1% des cas d'autres syndromes lymphoprolifératifs B, résultats objectivant une sensibilité de 52% et une spécificité de 95% du marqueur CD160 dans le diagnostic de LLC.

Conclusion :

Nous avons montré que le CD160 et surtout le CD200, avec une très bonne spécificité pour la LLC, sont fortement corrélés avec les autres indicateurs immunophénotypiques du score de matutes et pourraient être des marqueurs supplémentaires d'aide au diagnostic différentiel entre LLC atypiques et autre SPL B tels que le lymphome du manteau ou le lymphome de la zone marginale. L'étude de leur expression combinée est d'autant plus intéressante qu'elle améliore la discrimination diagnostique entre LLC et autre SLP-B. Ces résultats incitent à intégrer ces marqueurs dans le panel de routine effectué dans le cadre des bilans diagnostiques des syndromes lymphoprolifératifs.

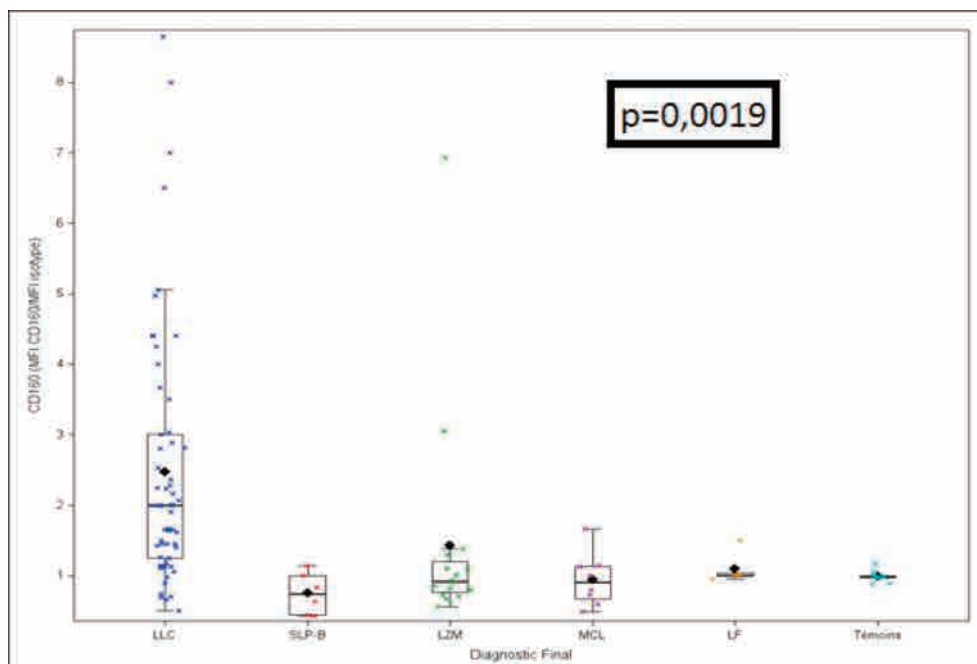


Figure 1 : Représentation en « boîtes à moustache » de l'intensité d'expression du CD160 exprimée en ratio d'IMF dans les différents syndromes lymphoprolifératifs B (moyenne, médiane, minimum, maximum et intervalle de confiance) (LLC : leucémie lymphoïde chronique ; SLP-B : syndrome lymphoprolifératif B non étiqueté ; LZM : lymphome de la zone marginale ; LF : lymphome folliculaire ; MCL : lymphome du manteau)

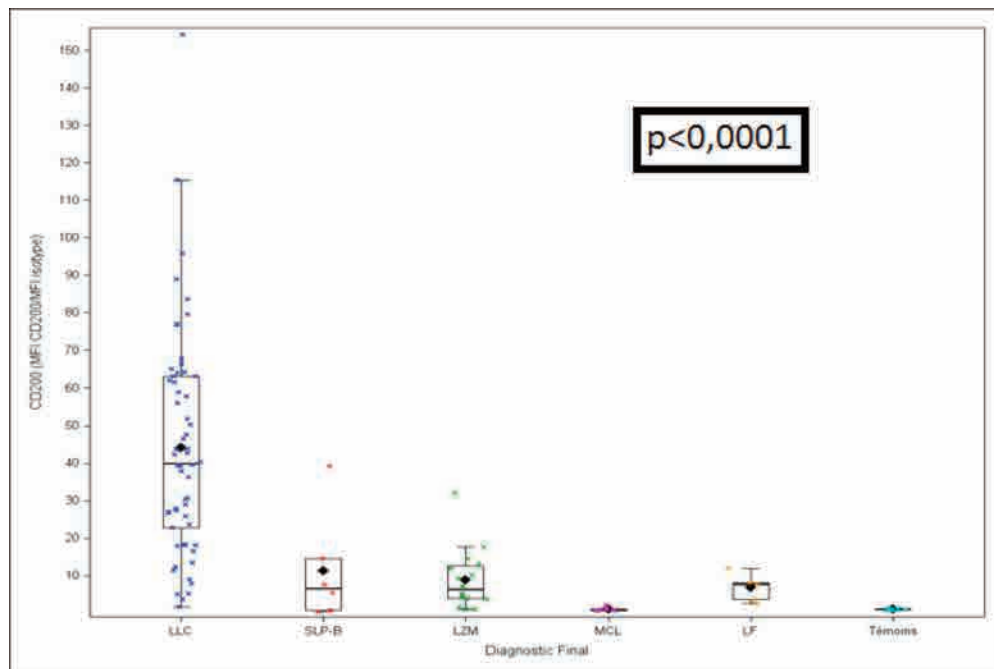


Figure 2 : Intensité d'expression du CD200 exprimée en ratio d'IMF dans les différents syndromes lymphoprolifératifs B représentées selon leur médiane et leur intervalle de confiance en « boîte à moustache » ($p < 0,0001$ comparativement au groupe LLC)

■ G2- Intérêt de la tripléte : CD20/CD81/CD43 pour le diagnostic de LLC.

Soraya Wuilleme, Nelly Robillard, Marion Eveillard, Anne Moreau, Beatrice Mahe, Marie-Christine Bene, Richard Garand

Laboratoire d'hématologie, CHU Nantes

Background

Selon la classification des néoplasie hématopoïétiques de l'OMS (IWCLL/NCI-WG, Hallek et al, Blood 2008), le diagnostic de la LLC Typique repose sur : (i) une lymphocytose B clonale > ou égal à 5G/l depuis au moins 3mois, (ii) une morphologie typique constituée majoritairement de petits lymphocytes matures et d'Ombres de Gumprecht, et (iii) un immunophénotypage typique et spécifique : CD19+ et score de MATUTES > ou égale à 4 (CD5+, CD23+, CD22+faible ou CD79b+faible, FMC7-/+ faible, sIg+faible). Néanmoins, il existe des LLC avec un score immunophénotypique de « MATUTES » inférieur à 4, dont le diagnostic repose sur l'aspect histo-pathologique caractéristique d'une biopsie ganglionnaire (Image1).

Objectif Du Travail

Notre objectif dans cette étude est d'évaluer la significativité de la tripléte immunophénotypique : CD20+faible/CD43+Fort/CD81+faible dans le diagnostic des LLC. (Image 2).

Résultats

Sur 2382 nouveaux cas de LLC, diagnostiqués entre 1990 et 2012 ; 176 (7,3%) avaient un score de MATUTES <4 (CD5+ et CD23+). 155/176 (86%) de score 3 et 21/176 (28%) de score 2.

Ce phénotype atypique ne permettait pas à lui seul de poser un diagnostic formel de LLC.

Nous avons testé la tripléte immunophénotypique CD20+faible/CD43+Fort/CD81+faible sur 205 échantillon de LLC en comparaison à 240 phase leucémique de LNH B de Bas Grade. Nos résultats montrent que 90% des LLC sont CD20+faible (contre 25% des LNH B de Bas Grade), 95% sont CD43+fort (contre 10% des LNH B de Bas Grade) et 79% sont CD81+faible (contre 16% des LNH B de bas Grade). Enfin, l'association de la Tripléte CD20+faible/CD43+fort/CD81+faible est retrouvée dans 71% des LLC contre seulement 1% des LNH B de Bas Grade avec une spécificité pour la LLC de 98%. (Image3).

Conclusion

La TRIPLETTE CD20+faible/CD43+fort/CD81+faible présente une très forte SPECIFICITE dans le diagnostic de la LLC, et elle s'avère intéressante dans le diagnostic des LLC score de Matutes inférieur à 4.

■ G-3 Mise en évidence de la différenciation plasmocytaire dans le lymphome lymphoplasmocytaire (MYD88 L265P muté).

Agathe Debliquis, Valérie Rimelen, Armelle Dongois, Inès Harzallah, Bernard Drénou

Centre Hospitalier de Mulhouse

Nous rapportons l'étude d'une série de lymphomes lympho-plasmocytaires (LPL) et apprécions l'intérêt d'un phénotypage lymphocytaire associé au phénotypage plasmocytaire.

La série se compose de 14 patients ayant un diagnostic de LPL (différenciation lympho-plasmocytaire cytologique, WHO 2008). Cette population présente un ratio F/H de 2/5 avec une moyenne d'âge de 72 ans. Le pic monoclonal est IgM (n=13) et IgG (n=1). L'étude a été effectuée au niveau médullaire après isolement (Ficoll). La recherche de la mutation MYD88 L265P a été réalisé par PCR ASO compétitive. 13/14 cas présentent cette mutation dont le LPL à IgG. Les marqueurs CD10, CD5, CD20, CD22, CD43, CD44, CD71, Ki-67 en intra-nucléaire, CD27 et la clonalité (kappa/lambda) des lymphocytes B ont été analysés ainsi que les marqueurs CD19, CD20, CD27, CD45, CD28, CD56 et les chaînes légères en intra-cytoplasmique des plasmocytes (CD38/CD138) sur un cytomètre CantoII (BD).

L'analyse par cytométrie en flux révèle dans 13/14 cas une lymphoprolifération B mature (CD19, CD22, CD20, CD45 high) clonale (Kappa/Lambda :12/1) post-germinale (CD10-, CD44 high) non proliférante (CD71-, nuki67-) CD27- associée à une plasmocytose (CD38+, CD138+) de même clonalité coexprimant le CD19. Deux de ces cas sont CD5+ (Matutes<4). Le dernier cas ne présente ni clonalité lymphocytaire B, ni clonalité plasmocytaire. Les expressions du CD45, du CD27 et du CD20 sur les plasmocytes sont hétérogènes.

L'analyse concomitante des lymphocytes et des plasmocytes par cytométrie en flux présente une aide au diagnostic des LPL : l'association d'une lymphoprolifération B clonale à une plasmocytose clonale CD19+ est caractéristique de cette entité mais l'absence de clonalité ne permet d'exclure le diagnostic et doit être pris en compte dans la compréhension physiopathogénique de la maladie.

ATELIER DE CAS CLINIQUES SUR LE THÈME « HÉMOPATHIES LYMPHOÏDES B MATURES HORS LLC TYPIQUES »

H LYMPHOCYTOSE POLYCLONALE À LYMPHOCYTES BINUCLÉÉS

■ **H1- Lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés : des critères de diagnostic à redéfinir et un besoin de suivi à long terme.**

Anne-Lise Gressot, Laure Marchal, Frédéric Massin, Chiara Bernardi, Edouard Cornet, Hossein Mossafa, Xavier Troussard, J.F. Lesesve

Service d'hématologie Biologique des CHU de Nancy et de Caen; Génétique, Laboratoire Cerba, Pontoise

La lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés (LPLB) est une entité mal connue. La présence de lymphocytes binucléés, l'expression du HLA DR7 et la présence de l'anomalie chromosomique iso 3 (q10) ne sont en fait ni constantes ni spécifiques. Dans le but de mieux définir les critères nécessaires au diagnostic des LPLP, nous avons analysé les données de deux cohortes : la base de données du GFHC et celle de l'observatoire national des LPLB créé récemment. 60 patients ont été inclus. La fiche d'inclusion de l'observatoire comporte des items simples à renseigner, portant sur le bilan initial.

Le sexe des patients, bien qu'essentiellement féminin (> 85%) n'a pas de valeur spécifique.

L'âge de diagnostic est plus informatif : entre 20 et 50 ans sauf un cas (56 ans).

Les antécédents n'ont pas de valeur spécifique mais un contexte rhumatologique et /ou un psoriasis et/ou une maladie auto-immune sont trouvés dans 40% des cas. Les antécédents familiaux n'ont que peu de valeur informative. Le tabagisme est quasi-constant et il faut rechercher un tabagisme constant dans les rares cas où les patients ne sont pas fumeurs.

Cliniquement, une asthénie, un syndrome polyalgique sont présents au moment du diagnostic chez 2/3 des patients. L'hémogramme, au diagnostic, indique une lymphocytose inférieure à 10 G/L sauf 2 cas mais celle-ci est inconstante (6 cas avec lymphocytes < 4 G/L). Le pourcentage de lymphocytes binucléés est important (entre 1 et 10%), dans la mesure où peu d'autres circonstances s'accompagnent d'un tel chiffre de lymphocytes binucléés. La morphologie est caractéristique : si les caractères des lymphocytes binucléés sont proches de ceux trouvés au cours d'autres syndromes lymphoprolifératifs (LLC, lymphome de la zone marginale, leucémie prolymphocytaire B ...) ou d'états réactionnels (en particulier au cours de la sclérose en plaques), le contexte (présence de cellules monocytoïdes et/ou hyperbasophiles) oriente vers une LPLP. Le polymorphisme des lymphocytes binucléés est cependant constant. La majorité sont de taille moyenne, présentent un noyau bilobé à lobes nucléolés et asymétriques, un cytoplasme de basophilie marquée mais restant moyenne et régulièrement vacuolaire. Le phénotype polyclonal est caractéristique surtout si on type les immunoglobulines de surface qui sont toujours IgM + IgD +. Le CD5 est habituellement négatif mais sa positivité ne doit pas remettre en question le diagnostic. Un caryotype doit être effectué car, si la présence d'un iso 3 (q10) ne s'observe que dans 60% des cas, elle est en revanche la signature de l'anomalie. Il existe par ailleurs un syndrome de condensation prématurée de la chromatine dans la moitié des cas et une instabilité génomique est fréquemment trouvée. Le phénotype HLA DR7+, bien que trouvé dans 70% des cas, n'a qu'une valeur indicative. Concernant l'évolution, les données de l'observatoire sont trop récentes pour pouvoir être exploitées mais il a été constaté une incidence de lymphomes non Hodgkiniens plus importante que la prévalence de cette affection pourrait l'expliquer. Le besoin de suivi à long terme justifie, si possible, l'inclusion exhaustive des patients porteurs de LPLB dans l'observatoire du GFHC.

■ **H2 - 3 cas de lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés.**

Hind Bennani, Anne Vincenot

Cas n°1 : Madame P, 31 ans, est hospitalisée dans le service de gynécologie pour grossesse extra-utérine (GEU) et suspicion de salpingite. Dans ses antécédents, on note une amygdalectomie dans l'enfance, une interruption volontaire de grossesse (IVG) en 1986, une salpingite en 1994 et une GEU en 1997. Cette patiente a de plus une exposition aux toxiques, avec une inhalation de zinc et de chrome, de part son travail dans l'industrie automobile. Enfin, on note une intoxication tabagique à raison de 8 paquets-année.

L'examen clinique met en évidence de petits saignements utérins, avec douleurs pelviennes aiguës. L'échographie utérine montre un utérus hypotonique, avec une collection liquidienne dans le cul-de-sac de Douglas, faisant évoquer une salpingite sur GEU, le taux de hCG stagnant à environ 300 UI/l depuis une semaine. Le traitement a été réalisé chirurgicalement, avec salpingectomie.

Les résultats biologiques à l'entrée montrent une petite hyperglycémie à 6,3 mM (N 4,2-5,6 mM), ainsi qu'un syndrome inflammatoire objectivé par une CRP à 125 mg/l (N < 8 mg/l). Il est retrouvé également une hyperleucocytose à 15,9 G/l (N : 4-10 G/l), une discrète anémie (hémoglobine : 119 g/l (N : 120-160 g/l)) normocytaire (VGM : 88,4 fl (N : 80-98 fl)) normochrome (TCMH : 29,5 pg (N : 27-31 pg) et CCMH 33,3 % (N : 32-36 %)), et des plaquettes à 188 G/l (N : 150-450 G/l). La formule sanguine montre une discrète polynucléose à 8,6 G/l (N : 1,8-8 G/l), ainsi qu'une hyperlymphocytose à 6,7 G/l (N : 1,5-4 G/l), constituée d'éléments de taille moyenne à grande, au cytoplasme d'abondance variable, mais souvent abondant, modérément basophile, au noyau quadrangulaire, parfois réniforme, et bilobé ou surtout binucléé, à chromatine dense à déliée, comportant un nucléole proéminent (Figure 1).

Devant cette hyperlymphocytose chronique à lymphocytes binucléés, le diagnostic de lymphocytose polyclonale avec lymphocytes binucléés (LPLB) est évoqué [1].

Un immunophénotypage, des sérologies virales, un dosage des immunoglobulines (Ig), ainsi qu'un caryotype sont réalisés. L'immunophénotypage des lymphocytes sanguins confirme la polyclonalité de la prolifération de ces lymphocytes B qui sont CD19+, CD20+, CD5-, CD10-, sans monotypie Kappa ni Lambda de la chaîne légère des Ig de surface. Les sérologies virales HBC, HCV, HIV sont négatives, alors que les sérologies EBV et CMV témoignent d'une infection ancienne. Le dosage des Ig et l'électrophorèse des protides met en évidence une augmentation polyclonale des Ig M (6,5 g/l, N : 0,6-2,8). La cytogénétique conventionnelle met en évidence la perte du gonosome X pour 9 mitoses sur 103, une condensation prématurée de la chromatine (PCC) pour trois cellules et l'absence d'isochromosome i(3)(q10). L'utilisation de sondes spécifiques alpha satellites des chromosomes 3 et 8 sur métaphase confirme l'absence de +i(3)(q10) surnuméraire et permet la mise en évidence d'une trisomie du chromosome 8 pour 4% des mitoses analysées (Figure 2). L'échographie abdominale retrouve une légère splénomégalie à 14,6 cm, sans hépatomégalie. Le scanner montre la présence de petits ganglions infracentrimétriques cervicaux et thoraco-abdominaux profonds.

Le diagnostic de lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés est posé et confirmé par l'analyse du réarrangement des gènes des Ig par biologie moléculaire qui ne retrouve pas de monoclonalité.

Cas n°2 : Troubles paroxystiques et hyperlymphocytose

Contexte : Patient de 47 ans, se présentant au service des urgences pour un malaise à type de céphalées intenses soulagées par l'obscurité, avec sensation de parésies du côté gauche, un œil gauche se mettant à bouger dans tous les sens avec variation papillaire de façon monoculaire, associée à un ralentissement psychomoteur d'une vingtaine de minutes. Il s'agit du 4ème épisode de ce type, avec hospitalisation durant les 2 premiers épisodes dans un autre centre hospitalier, où un diagnostic d'accident ischémique transitoire a été posé.

Dans les antécédents, on note : une allergie au thallium, au Bactrim® et au Totapen®, une névralgie cervico-brachiale gauche traitée par chirurgie, suivie d'un diagnostic de fibromyalgie, une hépatite C post-transfusionnelle avec PCR négative en 2003, des paresthésies à type de décharge électrique au niveau des quatre extrémités, une tuberculose dans l'enfance avec notion d'asthme.

NFS : Le bilan des urgences comprend un ionogramme, strictement normal, et une NFS, qui montre les résultats suivants : Leucocytes : 10,18 G/l, hémoglobine : 134 g/l, plaquettes : 187 G/l, PNN : 4,83 G/l, Lc : 4,45 G/l.

La formule sanguine montre une discrète hyperlymphocytose à 4,45 G/l (N : 1,5-4 G/l), constituée d'éléments de taille moyenne à grande, au cytoplasme d'abondance variable, mais souvent abondant, modérément basophile, au noyau quadrangulaire, parfois réniforme, et bilobé ou binucléé, à chromatine dense à déliée, comportant un nucléole proéminent. Devant cette hyperlymphocytose à lymphocytes binucléés, le diagnostic de lymphocytose polyclonale avec lymphocytes binucléés (LPLB) est évoqué.

Un immunophénotypage, des sérologies virales, un dosage des immunoglobulines (Ig), ainsi qu'un caryotype sont réalisés.

Immuno-phénotypage : L'immunophénotypage des lymphocytes sanguins montre une hyperplasie modérée du compartiment lymphoïde B (32%, N : 10-20%), dont les éléments sont CD19+, CD20+, CD5-, CD10-, et qui sont polyclonaux, sans monotypie Kappa ni Lambda de la chaîne légère des Ig de surface.

Electrophorèse des protéines : L'électrophorèse des protéines est normale, hormis une hypo-albuminémie modérée (35,2 g/l, N : 40,2-47,6). Le dosage des immunoglobulines montre un taux d'Ig A normal (2,51 g/l, N : 0,7-4,40 g/l), un taux d'Ig G sub-limite (7,7 g/l, N : 7,9-16,4 g/l) et un taux d'Ig M augmenté (5 g/l, N : 0,4 - 2,8 g/l).

Caryotype : La cytogénétique conventionnelle met en évidence la présence d'un isochromosome i(3)(q10).

Autres examens : Les sérologies virales HBV et HIV sont négatives, alors que les sérologies EBV et CMV témoignent d'une infection ancienne. La sérologie HCV est positive, mais la charge virale négative confirme la guérison.

Les facteurs anti-nucléaires sont négatifs.

Le TDM thoraco-abdomino-pelvien ne retrouve ni splénomégalie ni adénopathies.

Cas n°3 : Madame NM, âgée de 52 ans, fumeuse, présente une hyperlymphocytose de découverte fortuite sur un hémogramme réalisé dans les suites de douleurs de la cheville droite qui ont rapidement disparu.

L'examen clinique est normal

Bilan biologique :

-La NFS montre les résultats suivants :

Leucocytes : 7,90 G/l, hémoglobine : 144 g/l, plaquettes : 138 G/l, PNN : 8,84 G/l, Lymphocytes : 4,50 G/l.

Les lymphocytes circulants sont polymorphes et comprennent des grands lymphocytes d'allure activée, des cellules d'allure lymphoplasmocytaire, des lymphocytes à noyaux bilobés, et quelques lymphocytes à noyaux irréguliers avec un petit nucléole.

- L'immunophénotypage retrouve une hyperlymphocytose B polyclonale avec des lymphocytes exprimant fortement les IGM et les IGD et de phénotypes mémoires (CD27+ IGD+).

- Il existe une augmentation polyclonale des IGM (4,16 g/l le 16.08 - 3,95 g/l le 20.09 pour une normale inf à 2,3).

- absence de l'allèle HLA DR7

- caryotype sanguin: normal

Le diagnostic de lymphocytose polyclonale avec lymphocytes binucléés (LPLB) est retenu.

Actuellement, la patiente est parfaitement asymptomatique.

Elle a d'elle-même réduit sa consommation tabagique environ de moitié.

Un suivi clinique et biologique (hémogramme et EPP) une fois par an a été adopté.

Discussion :

La LPLB, décrite pour la 1ère fois en 1982 [1], est une entité récente et rare. Elle semble atteindre préférentiellement la femme jeune, le plus souvent fumeuse. Le diagnostic est purement cytologique et est confirmé par l'immunophénotypage sanguin et les caractéristiques cytogénétiques. Les sérologies virales permettent d'éliminer l'hyperlymphocytose des syndromes viraux. Les lymphocytes binucléés ne sont toutefois pas spécifiques de la LPLB : quelques cas de LLC à lymphocytes binucléés ont été décrits avec un phénotype habituel de LLC-B.

Le myélogramme est inutile. Sur le plan clinique, il n'existe dans la plupart des cas ni signes fonctionnels, ni signes généraux. On retrouve une splénomégalie modérée dans la moitié des cas, associée parfois à de petites adénopathies infra-centrimétriques, confirmées par l'imagerie.

L'étiologie de la LPLB reste inconnue. Il semble que le tabac soit impliqué : en cas d'arrêt, il peut y avoir disparition de la lymphocytose, mais les anomalies cytogénétiques persistent. La découverte de formes familiales a permis d'évoquer l'influence de prédispositions génétiques [2] dans l'éthiopathogénie de la LPLB. De façon intéressante, la majorité des études rapportent l'association HLA-DR7 et LPLB dans 80 à 90% des cas. Le rôle exact du HLA-DR7 dans l'émergence de la maladie reste à déterminer.

L'examen cytogénétique est d'une grande importance, puisqu'il a été montré qu'on retrouvait paradoxalement dans ce contexte de polyclonalité une anomalie clonale : l'isochromosome i(3q) dans 77% des cas, associée ou non à un phénomène de condensation prématurée des chromosomes [3] et une instabilité chromosomique. Le rôle de ce chromosome surnuméraire reste inconnu dans la survenue de la LPLB. Enfin, d'autres anomalies ont également été décrites dans la LPLB, en particulier des trisomies 3 ou 8, la perte du chromosome X et sur le plan moléculaire des réarrangements Bcl2-Ig H associés à la t(14;18), comme celle observée dans les lymphomes folliculaires [4].

Il a été montré dans une étude récente que ces lymphocytes sont porteurs des marqueurs CD 27, CD 148 et de l'Ig D de surface. Ce profil correspond au phénotype de cellules mémoire, stimulées par l'antigène, suggérant qu'une stimulation antigénique chronique pourrait jouer un rôle dans la genèse de la LPLB [5]. Les cellules CD27+ CD148+ ont de plus la caractéristique de synthétiser de grandes quantités d'Ig M après stimulation. Dans la majorité des cas de LPLB, une augmentation des Ig M sériques sans gammapathie monoclonale a été rapportée. Toutefois, quelques cas de gammapathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS) à Ig M ont été décrits, au diagnostic ou lors d'évolution.

En ce qui concerne l'évolution de ce syndrome, plusieurs patients ont été suivis avec une hyperlymphocytose stable sur plus de 20 ans. Cette absence d'évolution péjorative fait proscrire tout traitement chimiothérapique, mais une surveillance prolongée semble nécessaire, puisque des cas d'évolution, concernant environ 10% des patients, ont été décrits : LNH de bas ou haut grade, néoplasies, MGUS à Ig M [6]. Toutefois, les quelques cas étudiés ne permettent pas d'affirmer dans ces cas s'il existe un lien entre la LPLB et la pathologie nouvellement apparue. En l'état actuel des connaissances, on ignore encore si ce syndrome biologique correspond à un état préleucémique, ou à une affection clonale ou polyclonale, mais sa possibilité d'évolution vers une pathologie maligne permet de recommander un suivi clinique et biologique régulier.

ATELIER DE CAS CLINIQUES SUR LE THÈME « HÉMOPATHIES LYMPHOÏDES B MATURES HORS LLC TYPIQUES »

I PROLYMPHOCYTAIRES B

■ II- Leucémie prolymphocytaire : à propos de deux cas.

L. Monier (1), C. Mayeur-Rousse (1), A. Ittel (1,2), C. Gervais (1,2), L. Fornecker (3), A. Galois (1), L. Mauvieux (1)

1. Laboratoire d'Hématologie, CHU de Hautepierre, Strasbourg
2. Laboratoire de Cytogénétique d'Alsace
3. Service d'Hématologie et Oncologie, CHU de Hautepierre, Strasbourg

CAS 1

Présentation clinique : Patient de 78 ans, aux antécédents d'HTA, de troubles du rythme et de remplacement valvulaire aortique. Découverte d'une hyperlymphocytose dans un contexte d'AEG avec sueurs nocturnes. Cliniquement, volumineuse HSM et multiples ADP.

Cytologie : La NFS montre une hyperleucocytose à 133 G/L, une thrombopénie à 120 G/L avec anémie modérée à 11.6 g/dL, normochrome normocytaire arégénérative et 95% de cellules lymphomateuses de taille moyenne, chromatine intermédiaire avec fréquemment un volumineux nucléole central ou paracentral. IMMUNOPHENOTYPAGE
L'analyse immunophénotypique retrouve une lymphoprolifération B monotypique kappa (forte intensité) CD5- CD10- CD23+(partiel) FMC7+(partiel) CD22+ (forte intensité) CD20+ (forte intensité) CD79b+ (forte intensité) CD43- IgM/D+ (très fortes intensités) CD38-. Score de Matutes 1.

Cytogénétique : La cytogénétique retrouve la présence de deux clones ayant en commun une délétion des bras courts d'un chromosome 17 (p53 délété) sous forme d'un probable dicentrique avec un chromosome 8 pour le 1er clone (avec sous-clones présentant en plus soit des anomalies 6p, 22p, monosomie 18 et chromosome minute soit des anomalies 3q, 7q, 9p et 15q) et sous forme d'un probable dicentrique avec un chromosome 6 pour le second clone. L'étude en FISH confirme la présence d'une délétion du gène p53 dans les clones principaux, ainsi que la délétion du gène ATM dans le clone minoritaire.

Traitement et évolution : Le patient est actuellement en cours de traitement par Ofatumumab devant l'absence de réponse initiale aux 2 premières lignes administrées (R-Bendamustine puis R-CD).

CAS 2

Présentation clinique : Patiente de 92 ans, aux antécédents d'HTA, de troubles du rythme et de carcinome thyroïdien métastatique. Découverte d'une hyperlymphocytose dans un contexte d'AEG. Cliniquement, absence de syndrome tumoral.

Cytologie : La NFS montre une hyperleucocytose à 41 G/L avec anémie à 9,7 g/dL, normochrome normocytaire arégénérative et 82% de cellules lymphomateuses de taille moyenne, chromatine intermédiaire avec fréquemment un volumineux nucléole central ou paracentral.

Immunophénotypage : L'analyse immunophénotypique retrouve une lymphoprolifération B monotypique kappa (forte intensité) CD5- CD10- CD23- FMC7+ CD22+ (forte intensité) CD20+ (forte intensité) CD79b+ (forte intensité) CD43- IgM/D+ (très fortes intensités) CD38+. Score de Matutes 1.

Cytogénétique : La cytogénétique retrouve un caryotype complexe avec anomalies des bras longs des chromosomes 3, 7, 11, 13, 14, 16 et 22 et des bras courts des chromosomes 8 et 17 (entraînant la perte d'une copie du gène p53). Présence de 2 sous clones avec en plus, une délétion du bras court d'un chromosome 12 et une délétion du bras long d'un chromosome X. L'étude en FISH confirme la perte d'une copie du gène p53 sur les 20 métaphases et 86% des noyaux analysés.

Traitement et évolution : Compte-tenu de l'âge de la patiente, une simple surveillance avec support transfusionnel a été décidé.

ATELIER DE CAS CLINIQUES SUR LE THÈME « HÉMOPATHIES LYMPHOÏDES B MATURES HORS LLC TYPIQUES »

J LYMPHOMES DE LA ZONE MARGINALE

■ J1 - Un syndrome lymphoprolifératif B avec un score de Matutes à 3.

S. Sep Hieng (1), M. Tétégan (1), C. Terré (2), D. Kamioner (3), L. Calmette (1), JY. Peltier (1)

1. Laboratoire d'hématologie, CHI Poissy-St Germain
2. Laboratoire de cytogénétique, CH Versailles
3. Service d'onco-hématologie, Hôpital privé de l'Ouest Parisien, Trappes

Présentation clinique : En 2008, Mr F, 69 ans, est adressé en consultation d'hématologie pour une hyperlymphocytose découverte sur un bilan biologique réalisé dans le cadre d'une surveillance d'un adénome de prostate. Il est en bon état général et signale des sueurs nocturnes. A l'examen clinique, les aires ganglionnaires sont libres et il n'est pas retrouvé d'hépatosplénomégalie.

Bilan biologique : Hémogramme : GB = 142 G/l, Hb = 14,1 g/dl, VGM = 90 fl, plaquettes = 143 G/l. La formule sanguine est la suivante : PNN = 4 % (5,69 G/l), L = 94 % (133 G/l), M = 2 % (2,84 G/l).

Biochimie : Les LDH sont normales à 154 U/l, l'étude des protéines sériques montre une hypogammaglobulinémie à 6 g/l. L'immunophénotypage lymphocytaire B montre une population monoclonale lambda (expression moyenne), CD5-, CD23+, CD20+, CD22+, CD79b-, FMC7-, CD10-, CD43-, CD38-. Le score de Matutes est à 3.

Cytologie sanguine : les lymphocytes sont matures et montrent des contours nucléaires irréguliers avec incisure ou large encoche. Le rapport nucléo-cytoplasmique est élevé, et le cytoplasme est peu ou pas basophile. Il a été observé quelques noyaux nus.

Immunophénotypage sanguin : il s'agit d'un syndrome lymphoprolifératif B CD5- CD23+ avec un score de Matutes faible à 3.

Cytogénétique et biologie moléculaire : Le caryotype sanguin est le suivant : 46, XY, t(7;10)(q21;q23), add(19)(q1?3)[5] / 46, XY [15]. Il n'est pas mis en évidence de délétion 17p ni de délétion 11q par FISH.

L'étude de l'expression de Zap70 sur les lymphocytes B est positive. L'étude du réarrangement des gènes des régions variables des chaînes lourdes montre un profil muté (homologie = 93,9 %).

Conclusion / Discussion : Ce syndrome lymphoprolifératif B pose des problèmes de classification. Cytologiquement, nous avons évoqué une LLC atypique devant la présence de lymphocytes à chromatine mature, dont certains montrent un contour nucléaire irrégulier, avec incisure ou large encoche. Cependant, l'immunophénotypage sanguin, avec un score de Matutes à 3 et l'absence d'expression du CD5 et du CD43, oriente vers la diffusion sanguine d'un lymphome. Par ailleurs, aucun argument cytogénétique ne nous permet de retenir l'hypothèse d'une LLC atypique (absence de trisomie 12), d'un lymphome du manteau (absence de t(11;14)) ou d'un lymphome folliculaire (absence de t(14;18)). Il n'a pas été retrouvé de délétion 17p13 ou 11q22-q23 par FISH. Le caryotype de 2007 a mis en évidence une délétion 7q dans 5 mitoses étudiées, mais celui réalisé en 2011 avec une qualité meilleure montrait que la délétion 7q était en réalité une translocation t(7;10). Dans les lymphomes de la zone marginale splénique, les anomalies cytogénétiques les plus fréquemment retrouvées sont la délétion 7q ou des translocations non équilibrées touchant la région 7q22-7q32, la trisomie 3 totale ou partielle, la trisomie 18 et la trisomie 12. L'ensemble des résultats, l'immunophénotypage sanguin (CD5-, CD23+, score de Matutes à 3), le caryotype (t(7;10)) ne permet pas de classer sans ambiguïté cette hémopathie lymphoïde.

Evolution et traitement : Un bilan d'extension par un scanner thoraco-abdomino-pelvien montre l'absence d'adénopathies profondes. Le patient est en rémission complète après trois cures de Fludarabine-Endoxan en 2008.

Fin 2011, l'augmentation de la lymphocytose à 14 G/l signe une rechute. Il présente un bon état général, mais signale des sueurs nocturnes. Une nouvelle analyse cytogénétique ne montrera pas d'anomalies additionnelles. Un traitement par Rituximab-Fludarabine-Endoxan a été décidé en RCP.

Références :

Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood*. 2008;111(8):3941-67.
Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology <http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer>

■ J2 - Nature atypique de lymphocytes d'un lymphome de la zone marginale .

S. Sep Hieng (1), M. Tétégan (1), C. Terré (2), N. Frenkiel (3), L. Calmette (1), JY. Peltier (1)

1. Laboratoire d'hématologie, CHI Poissy-St Germain
2. Laboratoire de cytogénétique, CH Versailles
3. Service d'onco-hématologie, CHI Poissy-St Germain

Présentation clinique : Mr L, 61 ans présente une hyperlymphocytose à 5 G/L, de découverte de façon fortuite sur un hémogramme réalisé lors d'une exploration d'une hématurie macroscopique. Cliniquement, il n'a pas été mis en évidence de syndrome tumoral ganglionnaire et hépato-splénique. Une discrète splénomégalie est objectivée par l'échographie abdominale.

Il a comme principaux antécédents une hypertension artérielle, un diabète de type 2, et un tabagisme à 40 paquets-années sevré il y a 20 ans. L'exploration de l'hématurie révèle une tumeur intra-vésicale.

Bilan biologique : Hémogramme : GB = 11,26 G/L, Hb = 9,3 g/dl VGM = 88 fl, réticulocytes = 59,78 G/L, plaquettes = 256 G/L. La formule sanguine est la suivante : polynucléaires neutrophiles = 42 % (4.73 G/L), polynucléaires éosinophiles = 3 % (0.34 G/L), lymphocytes = 46 % (5,18 G/L), monocytes = 9 % (1.01 G/L).

Parmi les lymphocytes, 22 % des éléments ont l'aspect présenté sur les images jointes.

Biochimie : ferritine = 12 ng/ml (N = 30-400), CRP = 17 mg/l (N < 5 mg/l), LDH = 350 U/l (N < 250 U/l). L'électrophorèse des protéides ne montre pas de pic monoclonal.

Les sérologies VHB et VHC sont négatives.

Immunophénotypage lymphocytaire : population monotypique kappa CD5+ CD23-, CD79b+, FMC7+, CD20+, CD22+, CD103-, CD25+, CD11c+, CD43-, CD10-. Score de Matutes = 1.

Cytologie sanguine : les lymphocytes sont de taille moyenne, montrent une chromatine mottée, un cytoplasme basophile et un rapport nucléo-cytoplasmique faible. Certains lymphocytes montrent des atypies, avec des contours nucléaires irréguliers et parfois un noyau encoché. Un nucléole est parfois bien visible.

Immunophénotypage lymphocytaire : Population monotypique kappa CD5+ CD23-, avec score de Matutes faible à 1.

Cytogénétique :

- Conventio nnelle : 46,XY, del(7)(q31q36) [16] / 46, sl, add(4)(p16) [4]
- FISH : absence de remaniement des gènes IgH et bcl-1.

Diagnostic : Lymphome de la zone marginale.

Discussion : La présence d'un syndrome lymphoprolifératif B CD5+ CD23- avec les atypies morphologiques décrites peut faire évoquer un lymphome du manteau. Toutefois, cette hypothèse ne peut pas être retenue en l'absence de translocation t(11;14) et de remaniement des gènes IgH et bcl-1 par FISH. Par ailleurs, le score de Matutes faible (< 3) et l'absence d'expression du CD43 éliminent une LLC atypique. L'expression du CD5 est retrouvée dans 20 % des lymphomes de la zone marginale splénique. La mise en évidence de la délétion 7q, anomalie cytogénétique récurrente présente chez 25 à 40 % des patients atteints de lymphome de la zone marginale, nous a permis de retenir ce diagnostic.

Evolution : La tumeur vésicale est traitée par des instillations régulières d'AMETYCINE.

Depuis les six derniers mois, le patient ne présente pas de signes généraux d'évolutivité de type fièvre, sueurs nocturnes, ou perte de poids. Les aires ganglionnaires sont libres, et il n'y a pas de splénomégalie cliniquement palpable. Un scanner thoracique réalisé dans le cadre du bilan d'extension montre une lésion suspecte du lobe inférieur pulmonaire gauche associée à un nodule du lobe moyen. L'étude histologique de la ponction sous scanner de la lésion met en évidence un carcinome neuro-endocrin e à petites cellules. Un traitement par chimiothérapie et radiothérapie est décidé en RCP.

Références :

Baseggio L, Traverse-Gleben A, Petinataud E, et al. CD5 expression identifies a subset of splenic marginal zone lymphomas with higher lymphocytosis: a clinico-pathological, cytogenetic and molecular study of 24 cases. *Haematologica*. 2010;95(4):604-12.

Watkins AJ, Huang Y, Ye H, et al. Splenic marginal zone lymphoma: characterization of 7q deletion and its value in diagnosis. *J Pathol*. 2010;220(4):461-74.

ATELIER DE CAS CLINIQUES SUR LE THÈME « HÉMOPATHIES LYMPHOÏDES B MATURES HORS LLC TYPIQUES »

K LYMPHOME DU MANTEAU

■ K1 - Un lymphome du manteau dans sa forme blastoïde.

S. Sep Hieng (1), M. Tétégan (1), C. Terré (2), R. Misbahi (3), L. Calmette (1), JY. Peltier (1)

1. Laboratoire d'hématologie, CHI Poissy-St Germain
2. Laboratoire de cytogénétique, CH Versailles
3. Service d'onco-hématologie, CHI Poissy-St Germain

Présentation clinique : Mme N, 77 ans est adressée en consultation pour exploration d'une hyperlymphocytose et d'une asthénie depuis 3 mois. Elle ne signale pas de sueurs nocturnes. Le performance status est à 0. Elle présente une fièvre à 38°C sans frissons, une perte de poids de 3 kgs en 2 mois, des adénopathies cervicales bilatérales, sus-claviculaire gauche et axillaire gauche, sans hépatomégalie. Il existe une hypoesthésie de la houppe du menton, sans autres signes neurologiques retrouvés. Il n'y a pas de troubles du transit. Ses antécédents sont marqués par un cancer du sein droit ancien traité par mastectomie (1997), une arythmie complète par fibrillation auriculaire, et une splénectomie secondaire à un hématome sous-capsulaire lié à un surdosage en AVK (2010).

Bilan biologique : Hémogramme : GB = 24,76 G/L, Hb = 13,3 g/dl, VGM = 80 fl, plaquettes = 40 G/L, PNN = 15 % (3,71 G/L), PNE = 1 % (0,25 G/L), L = 43 % (10,65 G/L), M = 23 % (5,69 G/L).

Parmi les lymphocytes, 22 % des éléments ont l'aspect présenté sur les images 1 à 9.

Biochimie : les LDH sont élevées à 2617 U/L, la bêta-2 microglobuline est augmentée à 7,65 mg/l, et l'étude des protéines sériques montre un pic étroit monoclonal IgG lambda.

Un myélogramme est réalisé et montre un envahissement par des cellules (cf images 10 à 22).

Devant ces aspects cellulaires, quel(s) diagnostic(s) évoquez-vous ?

Cytologie sanguine : Les lymphocytes atypiques de grande taille montrent une chromatine mature et un cytoplasme très basophile. Certains d'entre eux ont une tendance blastique, avec un rapport nucléo-cytoplasmique élevé ; les contours nucléaires sont parfois irréguliers.

Examens complémentaires : L'immunophénotypage sanguin montre une population de lymphocytes B clonale lambda, CD19/5+, CD23-, FMC7+, CD79b++, CD38+, CD43-, CD10+. Le score de Matutes est à 1. Le CD200 est négatif.

Le myélogramme montre un envahissement par des cellules lymphoïdes d'aspect blastoïde représentant 50 % des cellules médullaires.

Caryotype médullaire : 46,XX,add(1)(p2?1),del(1)(q32),t(7;8)(p2?1;q1?2),-9,del(10)(q23q26),t(11;14)(q13;q32),-13,add(18)(q12),+3mars. La FISH IgH-BCL1 retrouve l'implication de ces gènes dans la t(11;14). L'hyperexpression de la cycline D1 est retrouvée par RT-PCR. Il n'a pas été mis en évidence de remaniement de c-myc par FISH.

Conclusion : Lymphome du manteau dans sa forme blastoïde.

Evolution et prise en charge : Le scanner cervico-thoraco-abdomino-pelvien montre de nombreuses images ganglionnaires sus claviculaires et axillaires droites. Il n'est pas retrouvé de lésion cérébrale. La ponction lombaire n'a pas été réalisée au décours de l'hospitalisation devant la thrombopénie à 40 G/L et d'un surdosage en AVK avec un INR à 6.

La patiente a souhaité être transférée dans un autre hôpital pour sa prise en charge.

Discussion : La présentation clinique marquée par une altération de l'état général, un syndrome tumoral et surtout l'hypoesthésie de la houppe du menton pouvait faire évoquer un lymphome de Burkitt dans sa forme leucémisée. Cytologiquement, de rares cellules d'allure blastique ont des vacuoles cytoplasmiques. L'immunophénotypage lymphocytaire est celui d'une hémopathie lymphoïde B mature exprimant fortement les chaînes légères lambda, les CD20, CD79b et du FMC7. Les marqueurs d'immaturité (CD34, TdT, CD10) sont négatifs. Le phénotype CD5+ CD23-, le score de Matutes faible et la négativité du CD200 sont en faveur d'un lymphome du manteau. La mise en évidence de la t(11;14)(q13;q32) avec fusion des gènes IgH et BCL-1 par FISH, caractéristique du lymphome du manteau confirme le diagnostic. La translocation du bras long du chromosome 8 n'implique pas c-myc. Les caryotypes complexes, avec la présence d'anomalies additionnelles à la t(11;14), sont fréquemment retrouvés dans les formes blastoïdes.

■ **K2 - Lymphome du manteau : une série de 29 cas.**

Monier L. (1), Galois AC. (1), Mayeur Rousse C. (1), Ittel A. (1), Miguet L. (1), Eischen A. (1), Fornecker L.(2), Mauvieux L. (1)

1. Laboratoire d'Hématologie Biologique, CHU Strasbourg
2. Service d'Onco-Hématologie Adulte, CHU Strasbourg

Introduction : Revue rétrospective d'une série de 29 cas de lnh du manteau en stade IV médulloanguin, avec t(11 ; 14)(q13 ;q32) et surexpression de la cycline D1.

Patients : Cette série se compose de 22 hommes pour 7 femmes (sex ratio : 3,14/1), âge médian : 70 ans (extrêmes 34 à 82 ans).

Clinique : La clinique de découverte de la maladie est le plus fréquemment représentée par des symptômes B (9 patients) ou un syndrome tumoral clinique (12 patients) (un patient présente en plus une localisation digestive). Trois patients se présentent avec un tableau atypique (un purpura sur thrombopénie profonde, une localisation palpébrale, une localisation osseuse). Après bilan d'extension, des adénopathies et une splénomégalie sont présentes chez respectivement 25 et 17 patients alors que seuls 2 patients présentent une hépatomégalie, 2 patients une forme splénique sans adénopathie et 2 patients ne présentent aucun syndrome tumoral.

Hémogramme : Anémie chez 11 patients (Hémoglobine : médiane : 12,4 g/dL ; extrêmes : 6,2 à 15,9 g/dL), Thrombopénie chez 19 patients (Plaquettes : médiane : 120 G/L extrêmes : 34 à 450 G/L), Lymphocytose chez 15 patients (Lymphocytes : médiane : 3 G/L ; extrêmes : 0.15 à 65 G/L). Six patients présentent une NFS normale. Seul 1 patient ne présente pas de phase leucémique.

Cytologie : 14 cas sont de cytologie classique, 8 cas blastoïdes, 2 cas pléiomorphes (dont un cas d'aspect « leucémie à prolymphocytes ») et 5 cas de type petites cellules LLC-like. Aucun cas ne présente de morphologie marginal zone-like. Immunophénotype : Monotypie majoritairement lambda (16 lambda/11 kappa). La plupart de phénotype classique CD5+/CD23- (13 cas) ; 8 cas sont CD5+/CD23+. Parmi les 5 cas CD5-, 3 sont CD23- et 2 sont CD23+. La majorité des cas sont CD43+ (21 cas). Les scores de Matutes sont majoritairement de 1 ou 2. Quatre phénotypes sont incomplets.

Cytogénétique : 25 caryotypes sont complexes, 3 montrent une hypoploïdie, 3 une hyperploïdie (dont une pseudotétraploïdie avec une morphologie blastoïde). L'anomalie associée la plus fréquemment retrouvée est une perte de p53 (7 patients dont 6 avec une cytologie variante agressive).

Traitement : La majorité des patients a reçu plusieurs lignes de chimiothérapie, le plus souvent de type R-CHOP. Neuf patients ont été autogreffés avec 4 rechutes post-greffe et 2 décès.

Evolution : 12 patients sont en RC, 8 sont décédés, 7 sont en cours de traitement, une patiente est perdue de vue, un patient est en surveillance.

Un cas clinique particulier : une patiente de 67 ans avec une présentation de leucémie prolymphocytaire (hyperleucocytose au diagnostic à 72 G/L et une morphologie prolymphocytaire typique).

Discussion/Conclusion : Série concordante avec les données de la littérature.

Bibliographie

WHO classification of tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues
Swerdlow et al, IV edition, IARC Press

Mantle cell lymphoma : 2012 update on diagnosis, risk stratification and clinical management
Vose JM. *Am J Hematol.* 2012 Jun;87(6):604-9

ATELIER DE CAS CLINIQUES SUR LE THÈME « HÉMOPATHIES LYMPHOÏDES B MATURES HORS LLC TYPIQUES »

L LYMPHOMES A GRANDES CELLULES

■ L1- Localisation médullaire d'un Lymphome B agressif, inclassable, intermédiaire entre un lymphome diffus à grandes cellules B et un lymphome de Burkitt, et d'origine centrofolliculaire.

B. Foucher (1), L. Vila (2), A. Plesa (3), E. Callet-Bauchu (4), P. Gérome (1)

1. Laboratoire d'hématologie, Hôpital d'Instruction des Armées Desgenettes
2. Laboratoire d'hématologie spécialisée, Hôpital Edouard Herriot,
3. Laboratoire d'immunophénotypage des hémopathies malignes, Centre hospitalier Lyon Sud.
4. Laboratoire de cytogénétique, Centre hospitalier Lyon Sud.

Patiente de 83 ans, hospitalisée pour bilan d'une pancytopenie peu sévère sans syndrome tumoral.

L'hémogramme met en évidence une anémie normochrome normocytaire arégénarative à 10.8 g/d, une neutropénie très modérée à 1.4G/L et l'absence de thrombopénie.

L'examen du myélogramme montre l'envahissement par plus de 60% de cellules lymphomateuses de grande taille, au cytoplasme intensément basophile, à la chromatine assez compacte laissant apparaître un à plusieurs nucléoles ou plus fréquemment un gros nucléole en position paracentrale. De nombreuses mitoses sont observées. Un lymphome agressif B de type Burkitt-like est évoqué.

L'analyse de ce contingent par cytométrie en flux confirme l'appartenance à la lignée B de cette population lymphomateuse, qui exprime le CD20 de façon hétérogène, une chaîne légère kappa, fortement le CD10, CD 38 et le CD79b. Mais de façon inhabituelle le CD 24. La protéine Bcl2 est fortement exprimée tandis que le CD 43 est négatif.

Le diagnostic de lymphome agressif à grandes cellules B centrofolliculaire est posé.

Le bilan d'extension ne retrouve pas d'organomégalie et en quelques jours une unique adénopathie apparaît ainsi qu'une petite infiltration sanguine. La ponction de LCR montre une infiltration méningée.

Le caryotype médullaire effectué sur le ganglion Met en évidence des remaniements de structure de type "double hit" impliquant BCL2 [t(14;18)] et C-MYC [t(8;22)] dans l'ensemble des métaphases. Ceci permet de conclure à un lymphome B agressif, intermédiaire entre un lymphome diffus à grandes cellules B et un lymphome de Burkitt (1,2), et d'origine centrofolliculaire.

L'évolution sous chimiothérapie est favorable, avec une bonne réponse cytologique et un amendement des cytopénies après 8 cures de R mini CHOP, mais 2 mois après la fin du traitement la patiente est hospitalisée pour décompensation cardiaque. Un épanchement péricardique est retrouvé, ainsi qu'un épanchement pleural infiltré de cellules lymphomateuses identiques à celles du diagnostic. En quelques jours une infiltration sanguine massive apparaît et l'évolution est très rapidement fatale.

Discussion : Ce cas illustre la difficulté du diagnostic cytologique entre lymphome B à grande cellules (DLBCL), lymphome B inclassable de caractères intermédiaire entre DLBCL et lymphome de Burkitt, et lymphome de Burkitt.

La présentation médullaire isolée mais massive est également inhabituelle.

Malgré une symptomatologie initiale peu bruyante, et une chimiothérapie efficace et bien tolérée par R-CHOP, l'évolution clinique a été défavorable en 10 mois. Ceci était attendu : Si leurs présentations cytologiques et cliniques sont très hétérogène, ces lymphomes sont très souvent associés à un pronostic des plus sombres, particulièrement lorsque la translocation concerne MYC (59% de décès avant 6 mois lorsque MYC est muté (3)). L'ajout de la translocation impliquant Bcl2 ne modifiant pas la survie globale (2).

Bibliographie

- (1) *Who classification of tumours of Haematopoietic and lymphoid tissues, 2008*
- (2) Sieste M, Aukema, Reiner Siebert, Ed Schuurin et al. Double hit B cell Lymphomas. *Blood* 2011 117 : 2519-2531.
- (3) Nathalie A. Johnson, Kerry J. Savage, Olga Ludkovski et al. LYMPHOID NEOPLASIA : Lymphomas with concurrent BCL2 and MYC translocations: the critical factors associated with survival. *Blood* 2009 114:2275-2279.

■ L2- Lymphomes Double-Hit : à propos de quatre cas cliniques.

Hind Bennani (1), Jean-Michel Martelli (2), Anne Marfaing Koka (3), François Drupt (1), Jacques Vargaftig (1)

1. Institut Curie-Hôpital René Huguenin, Saint Cloud

2. C.H.I. Meulan-les Mureaux, Meulan

3. Hôpital Antoine Bécclère, Clamart

Cas N° 1 : Patient de 59 ans, connu pour un LNH folliculaire de grade 3b, stade IV diagnostiqué en juillet 2008. Après un traitement par 8 cures de R-CHOP une rémission complète est obtenue, persistante en juin 2012.

En décembre 2012, rechute avec atteinte ganglionnaire disséminée et osseuse,

Biochimie : LDH 8 fois la normale.

Hémogramme: Hémoglobine 14.3 g/dL, Leucocytes 11.5 G/L dont 5.6 G/L PNN et 5.0 G/L Lymphocytes (avec de nombreux lymphocytes atypiques de petite et grande taille), Plaquettes à 62 G/L.

L'analyse cytologique du myélogramme montre une infiltration massive (79%) par des cellules d'aspect lymphoblastique et 20% de petits lymphocytes matures souvent encochés.

L'immunophénotypage des cellules médullaires retrouve deux populations distinctes :

- Une population de grandes cellules de phénotype B CD19+/CD20-/ CD34+/CD10++/CD38++CD5-/sIg-/cyIgM+ faible/TDT+ partiel

- Une population de petites cellules de phénotype B, CD19+/CD20+/CD10+ partiel /CD5-/sIg kappa+/mu+++.

L'analyse cytogénétique met en évidence un caryotype complexe avec notamment une t(14;18) retrouvée dans 96% des noyaux, un remaniement en 3q27 impliquant BCL6 et un remaniement en 8q24 impliquant CMYC dans 68% des noyaux (confirmé par FISH).

L'étude anatomopathologique de la biopsie ganglionnaire conclut à un lymphome agressif de phénotype B blastoïde, « triple-hit », issu de la transformation du lymphome folliculaire déjà connu.

Traitement par DHAP/Méthotrexate à fortes doses/Asparaginase

Le patient décède 3 mois après le diagnostic.

Cas N° 2 : Patiente de 50 ans, explorée en juillet 2011 pour de volumineuses masses tumorales ganglionnaires et extra-ganglionnaires (infiltration pleurale, péritonéale, splénique et méningée).

L'analyse du liquide pleural montrait une infiltration par des cellules de taille moyenne à grande, de phénotype B CD19+/CD20+/CD10+/CD5-/sIg kappa+/mu+++.

Le myélogramme et la biopsie ostéo-médullaire ne retrouvaient pas d'infiltration.

La cytogénétique réalisée sur les cellules du liquide pleural retrouve un caryotype complexe avec t(14;18) et t(8;14) impliquant un remaniement CMYC (confirmé par FISH).

Le traitement comprend de multiples lignes de chimiothérapie dont l'efficacité est très limitée: R-CHOP, puis R-COPA-DEM/R-CYVE, puis R-DHAP et enfin R-CHOP associé au thalidomide (chez une patiente en très mauvais état général).

Le décès survient 8 mois après le diagnostic.

Cas N° 3 : Patient de 59 ans, ayant pour antécédent un LNH folliculaire de stade IV diagnostiqué en 1999 avec une trisomie 18 en cytogénétique, traité par 6 cures de mini-CHVP, puis Interféron alpha en entretien pendant 18 mois.

En 2006, on note l'apparition d'une anémie à 8.2 g/dL d'hémoglobine, ainsi qu'une thrombopénie à 82 G/L, des LDH élevées à 4 fois la normale.

On retrouve une infiltration médullaire et méningée

par des cellules lymphoïdes d'aspect Burkitt-Like.

L'analyse anatomopathologique de la BOM confirme l'infiltration lymphoïde B de phénotype centrofolliculaire : CD45+CD20-CD79a-CD10+bcl2+, avec un réarrangement BCL2 par technique de FISH.

En cytogénétique conventionnelle, on retrouve une t(8;14) ainsi que la disparition du clone initial qui portait une trisomie 18.

Cas N° 4 : Patient de 57 ans hospitalisé pour des douleurs dorsales basses, ainsi que des ecchymoses et épistaxis. Il présente de volumineuses masses tumorales ganglionnaires et extra-ganglionnaires (infiltration nodulaire paravertébrale).

Biochimie: LDH 2 fois normale

Hémogramme: Hémoglobine 5.8 g/dL, Leucocytes 4.9 G/L dont PNN 0.5 G/L et Lymphocytes 4.2G/L (avec de quelques lymphocytes atypiques à noyaux irréguliers), Plaquettes 10 G/L.

L'immunophénotypage sanguin retrouve une population B monotypique (μ , k) CD5-/ CD23 / CD38+/ CD79b+/ CD22+/ CD10+ partiel.

La ponction sternale d'aspiration très difficile montre une moelle de richesse moyenne, infiltrée massivement (70 %) par des cellules Burkitt-like petites à moyennes à rapport nucléo-cytoplasmique élevé, à cytoplasme basophile et à chromatine fine avec un nucléole visible et quelques micro-vacuoles.

La Biopsie d'un ganglion sus-claviculaire gauche met en évidence un LNH folliculaire à cellules centrocytiques, de grade I et focalement II (> 6 centroblastes) selon l'OMS. On note également la présence d'une population de cellules de taille moyenne d'allure blastique.

Immunohistochimie : profil B centrofolliculaire Bcl-2+/CD10+/CD5-/CD43-/CD23-/Ki67 à 8%.

A la BOM, envahissement diffus par des centrocytes et des centroblastes présentant une immunoréactivité avec les anticorps Pan B, Bcl-2 et CD10, le Ki67 est faible (<8%). Il existe des micro-plages de cellules blastiques à Ki67 élevé (70%).

La cytogénétique met en évidence un caryotype complexe avec des anomalies chromosomiques clonales de nombre et de structure:

- le remaniement du bras long d'un chromosome 8
- la duplication partielle du bras long d'un chromosome 14
- le remaniement du bras long d'un chromosome 18 associé à la trisomie du chromosome 18

On confirme par FISH la présence d'un réarrangement IgH/bcl-2 ainsi que d'un réarrangement IgH/MYC concernant le chromosome 8 et le même chromosome 14 déjà impliqués dans la translocation t(14;18).

Le patient est traité par une chimiothérapie de type R-CHOP puis bénéficie d'une intensification thérapeutique par autogreffe de cellules souches. Il rechute sous une forme leucémique six mois après et décède rapidement.

Discussion :

MYC est un facteur de transcription contrôlant l'expression de nombreux gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire, le métabolisme, la réparation de l'ADN, la réponse au stress et la synthèse de protéines. La t(8;14) caractéristique du lymphome de Burkitt, et ses variantes t(2;8) et t(8;22), entraînent la juxtaposition de MYC à un gène d'immunoglobuline et sont responsables d'une sur-expression MYC. Le haut niveau d'expression de MYC conduit à une prolifération clonale maligne des cellules B.

BCL2 est un gène responsable de l'inhibition de l'apoptose. La t(14;18) est présente dans 80% des lymphomes folliculaires et dans 30% des lymphomes B diffus à grandes cellules. Elle met en contact le proto-oncogène BCL2 (sur le chromosome 18) avec le gène codant pour la chaîne lourde des immunoglobulines (sur le chromosome 14). La juxtaposition de BCL2 au gène IgH aboutit à la dérégulation de son expression ; la surexpression de protéine qui en résulte est à l'origine de l'immortalisation des cellules B.

D'un côté la protéine MYC soutient la prolifération cellulaire et de l'autre la protéine Bcl-2 protège la cellule de l'apoptose. Lorsque l'expression de ces deux protéines est augmentée simultanément au sein d'une même cellule tumorale il en résulte une synergie hautement agressive.

Les lymphomes avec double réarrangement MYC/IgH et IgH/Bcl-2, ou plus rarement IgH/Bcl-6 sont rares, appelés lymphomes B double-hit. Ils représentent moins de 1% des lymphomes et approximativement 4% des lymphomes B de haut grade. Ils sont mentionnés dans la classification OMS 2008 au sein d'une entité nouvelle: «lymphomes B inclassables d'allure intermédiaire entre le lymphome B à grandes cellules et le lymphome de Burkitt». Il existe une difficulté de diagnostic cytologique pouvant amener à les classer en lymphomes B à grandes cellules, en lymphomes folliculaires de grade 3 ou bien en lymphomes lymphoblastiques.

La plupart des cas rapportés dans la littérature ont une allure cytologique polymorphe, souvent Burkitt-like, et un profil immunophénotypique centro-folliculaire, Les LDH sont élevés, la moelle est souvent envahie, on retrouve fréquemment de multiples atteintes extra-nodales ainsi qu'un envahissement du système nerveux central. Les patients ont un score IPI souvent défavorable.

Les lymphomes double-hit sont des lymphomes agressifs, associés à un très mauvais pronostic.

Les patients sont traités selon des protocoles de chimiothérapie standard ou plus agressive, mais leur médiane de survie n'atteint que 18.6 mois. Les patients ayant un antécédent de lymphome folliculaire (17% des lymphomes double-hit) ont une médiane de survie encore plus basse de 7.8 mois.

Références :

B-cell lymphomas with MYC/8q24 rearrangements and IGH@BCL2/t(14;18) (q32;q21) : an aggressive disease with heterogeneous histology, germinal center B-cell immunophenotype and poor outcome. Li S, Lin P, Fayad LE, Lennon PA, Miranda RN, Yin CC, Lin E, Medeiros LJ. Mod Pathol. 2012 Jan;25(1):145-56.

Double-hit B-cell lymphomas. Aukema SM, Siebert R, Schuurin E, van Imhoff GW, Kluin-Nelemans HC, Boerma EJ, Kluin PM. Blood. 2011 Feb 24;117(8):2319-31.

Lymphome folliculaire en transformation de type Burkitt-like. Jean-Michel Martelli, Marie Morcelet, Hossein Mossafa, Alain Bourguinat. Spectrabiologie n° 162 • Novembre 2007

■ L3- Diagnostic d'un lymphome « double hit » chez un patient atteint d'un SRPL.

Vergnolle S. (1), Gaillard B. (1), Luquet I. (1,2), Cartier C. (1), Lafon C. (1), Creuza V. (1), Delmer A. (3), Daliphard S. (1)

1. Laboratoire d'Hématologie CHU Reims, 2Service de génétique CHU Reims
3. Service d'Hématologie clinique CHU Reims,

Présentation initiale : Septembre 2000, Mr C., 77 ans, présente les antécédents suivants : diabète insulino-dépendant diagnostiqué en 1978 avec complications neurologiques et rétinienues, dyslipidémie. L'examen clinique révèle un état général médiocre et une splénomégalie. L'hémogramme montre des leucocytes à 11,6 G/L (PNN : 3 G/L, lymphocytes : 7,6 G/L, monocytes : 0,4 G/L, PNEo : 0,4 G/L), hémoglobine : 14,5 g/dL, VGM : 96 fL, plaquettes : 185 G/L, réticulocytes : 53 G/L. La majorité des lymphocytes sont villeux. L'immunophénotypage lymphocytaire effectué sur sang en CMF met en évidence une population lymphocytaire B monoclonale kappa (60% des lymphocytes) score de Matutes (R.M.H) : 0/5. L'aspect des lymphocytes sanguins et le résultat de l'immunophénotypage sont conjointement en faveur d'un lymphome de type SLVL (splenic lymphoma with villous lymphocytes).

En 2002, le patient est splénectomisé compte tenu de l'importance de la splénomégalie. Le poids de la rate est de 1900 g ; une localisation splénique de leucémie à tricholeucocytes avec infiltration de la pulpe rouge est mise en évidence par l'anatomopathologie. Le caryotype effectué sur un échantillon de rate révèle une délétion du bras long d'un chromosome 7 (del(7q)). L'hémogramme post splénectomie d'avril 2003 montre une hyperleucocytose à 20,1 G/L (hyperlymphocytose : 14,6 G/L dont 14,2 G/L lymphocytes villeux) sans anémie ni thrombopénie. Une abstention thérapeutique avec surveillance de l'hémogramme est proposée.

Evolution : Aucun évènement particulier n'est à signaler jusqu'à début 2011, où le patient est hospitalisé pour altération majeure de l'état général avec dénutrition. L'hémogramme de fin mars 2011 montre une hyperleucocytose à 10,8 G/L avec une discrète hyperlymphocytose à 4 G/L, une myélémie à 8%, une érythroblastémie à 6 % sans anémie ni thrombopénie. La population lymphocytaire est constituée d'un contingent très minoritaire de lymphocytes villeux déjà décrits en 2000 et d'une majorité de cellules lymphoïdes atypiques à chromatine de densité variable, souvent nucléolées, à cytoplasme basophile (certaines de grande taille) dont l'aspect est en faveur d'un lymphome agressif. L'immunophénotype de la population lymphocytaire retrouve 62% de cellules lymphoïdes de type B clonal kappa (intensité modérée) de score R.M.H 0/5, CD11c+, CD103+, CD25-, CD43-, CD20+ fort. Le caryotype sanguin met en évidence deux clones distincts : un clone 46,XY,del(7q) correspondant à celui du lymphome splénique de 2000 et un second clone 49,t(Y;1)(q12;q21),X,+X,1,t(2;18)(p11;q21),t(8;14)(q24;q32),+12,+13,der(18)t(2;18)(p11;q21),+r avec absence de la del(7q), les translocations t(2;18) impliquant le gène BCL2 associée à une duplication du dérivé 18 et t(8;14) impliquant les gènes MYC et IGH correspondant au clone du lymphome B à grandes cellules de type « double-hit ». Les anomalies cytogénétiques impliquant le réarrangement des gènes BCL2 et MYC sont confirmées par technique de FISH. Par ailleurs, le taux de LDH est augmenté (>15 X N).

L'évolution du patient sous corticoïdes est défavorable et il décède un mois après le diagnostic de lymphome B à grandes cellules en soins palliatifs.

Commentaires : Dans notre cas, la morphologie des lymphocytes (avec expansions cytoplasmiques caractéristiques) en pourcentage largement supérieur à 30 % des lymphocytes et l'immunophénotypage (score 0 RMH, CD 11c+, CD 25-, CD 103 non effectué) du sang initial, sont compatibles avec un SRPL (lymphomes initialement décrits en 2000 comme un SLVL selon la classification FAB de 1989). Le patient est resté stable pendant huit ans après la splénectomie.

Le SRPL (splenic red pulp lymphoma) est un lymphome B indolent peu fréquent qui se caractérise par une atteinte diffuse de la pulpe rouge splénique par de petits lymphocytes B monomorphes. Il est reconnu comme une entité provisoire de la classification OMS 2008 et initialement identifié comme un variant potentiel de SMZL (splenic marginal zone lymphoma). La singularité de notre observation réside dans son évolution car la littérature étudiée n'évoque pas la coexistence de clones de lymphomes différents (petites cellules d'une part et grandes cellules d'autre part) mais plutôt la transformation de lymphome à petites cellules en lymphome à grandes cellules, et ceci, quasi exclusivement pour le SMZL dans le cas des lymphomes spléniques. De surcroît, notre cas associe au lymphome B de type SRPL, un lymphome B à grandes cellules, ayant la particularité de présenter un double réarrangement des gènes MYC et BCL2 (lymphome qui devrait être classé dans la catégorie des lymphomes B inclassables à caractéristiques intermédiaires entre lymphome B diffus à grandes cellules et lymphome de Burkitt selon la classification OMS 2008). Ce lymphome « double hit » est un lymphome agressif de mauvais pronostic, le plus souvent réfractaire aux traitements habituels des lymphomes.

Conclusion : Cette observation illustre la coexistence de deux clones lymphomateux, d'une part, un lymphome B à petites cellules de type SRPL assez rare et d'autre part, un lymphome B à grandes cellules de type « double-hit », également très rare....

Références

- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al., editors. *WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*, Fourth Edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2008. p. 185-193; p.265-266.
- Traverse-Glehen A, Baseggio L, Bauchu EC, Morel D, Gazzo S, Ffrench M, Verney A, Rolland D, Thieblemont C, Magaud JP, Salles G, Coiffier B, Berger F, Felman P. Splenic red pulp lymphoma with numerous basophilic villous lymphocytes: a distinct clinicopathologic and molecular entity? *Blood* 111(4):2255-2260, 2008.
- Kanellis G, Mollejo M, Montes-Moreno S, Rodriguez-Pinilla SM, Cigudosa JC, Algara P, Montalban C, Matutes E, Wotherspoon A, Piris MA. Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma: revision of a series of cases reveals characteristic clinico-pathological features. *Haematologica* 95(7):1122-1129, 2010.
- Camacho FI, Mollejo M, Mateo MS, Algara P, Navas C, Hernández JM, Santoja C, Solé F, Sánchez-Beato M, Piris MA. Progression to large B-cell lymphoma in splenic marginal zone lymphoma: a description of a series of 12 cases. *Am J Surg Pathol*. 2001 Oct;25(10):1268-76.
- Dunganwalla M, Appiah-Cubi S, Kulkarni S, Saso R, Wotherspoon A, Osuji N, Swansbury J, Cunningham DC, Catovsky D, Dearden CE, Matutes E. High-grade transformation in splenic marginal zone lymphoma with circulating villous lymphocytes: the site of transformation influences response to therapy and prognosis. *Br J Haematol*. 2008 Oct;143(1):71-4.

■ **L4- Phase leucémique d'un lymphome plasmablastique avec translocation t(8 ; 14) impliquant le gène c-myc.**
B. Foucher (1), A. Plesa (2), É. Callet-Bauchu (3), D. Treille-Ritouet (4), P. Gérôme (1)

1. Laboratoire d'hématologie, Hôpital d'Instruction des Armées Desgenettes
2. Laboratoire d'immunophénotypage des hémopathies malignes, Centre hospitalier Lyon Sud
3. Laboratoire de cytogénétique, Centre hospitalier Lyon Sud
4. Laboratoire d'hématologie spécialisée, Hôpital Edouard Herriot

Nous rapportons le cas d'un homme de 64 ans hospitalisé par le service d'accueil des urgences pour asthénie avec fébricule et toux. A l'entrée l'hémogramme objective une anémie normochrome normocytaire à 10g/dL, une hyperleucocytose à 22G/L avec myélémie et 12% de cellules de taille moyenne à grande, au noyau à la chromatine très mottée et au cytoplasme intensément basophile. La présence d'un ou plusieurs nucléoles dans le noyau est parfois observée mais l'aspect évoque plutôt une différenciation plasmocytaire.

L'électrophorèse des protéines sériques montre un tracé inflammatoire et l'absence de pic monoclonal. Les chaînes légères libres sont normales.

L'examen clinique retrouve une hépatosplénomégalie. Un myélogramme, un caryotype médullaire et un immunophénotypage sur moelle sont réalisés.

L'examen du myélogramme montre 30 à 45% de cellules de grande taille, au cytoplasme hyperbasophile, à la chromatine motée parfois nucléolée, avec un rapport nucléocytoplasmique assez important, sans archoplasme.

Il s'agit plus vraisemblablement de cellules plasmocytaires très immatures ou de plasmablastes que de cellules lymphomateuses atypiques. Le diagnostic de leucémie à plasmocytes / plasmablastes est évoqué.

L'analyse de ce contingent par cytométrie en flux confirme l'appartenance plasmocytaire de ces cellules avec la co-expression du CD38++ et du 138++ (Syndecan) et la monotypie pour la chaîne légère kappa exprimée en intracytoplasmique et très faiblement en surface. Ces cellules sont CD19 et CD 20 négatives. Le CD45 est faiblement positif, tandis que le CD 56 et le CD 28 ne sont pas exprimés.

Le caryotype médullaire identifie une translocation t(8 ;14) impliquant le gène C-MYC, ainsi qu'une trisomie +11, représentant du point de vue strictement cytogénétique un argument en faveur d'un lymphome de Burkitt plutôt que d'une leucémie à plasmocytes/ plasmoblastes. Le réarrangement C-MYC a été confirmé par FISH ciblée et a été retrouvé dans 31% des cellules interphasiques analysées.

Discussion : Le classement de cette pathologie très atypique est difficile.

Le diagnostic de leucémie à plasmocytes / plasmablastes non sécrétant initialement retenu a été basé sur :

- les données de l'hémogramme avec une plasmocytose sanguine supérieure à 2G/L, les données du myélogramme et de l'immunophénotypage.

Mais un lymphome plasmablastique inhabituel a finalement été retenu compte tenu des arguments suivants :

- Des translocations impliquant MYC ont été décrites dans cette pathologie (1).

- L'aspect des cellules est généralement immunoblastique mais pourrait parfois être plasmocytaire/plasmablastique (2,3)

La présentation clinique demeure cependant très atypique car l'envahissement médullaire initial est rare (2) et aucun contexte d'immunodépression n'était connu chez ce patient.

Bibliographie :

- (1) Tadesse-Heath L, Meloni-Ehrig A, Scheerle J, et al. Plasmablastic lymphoma with MYC translocation: evidence for a common pathway in the generation of plasmablastic features. *Mod Pathol* 2010; 25 : 991-999.
- (2) E. D. Hsi, R. B. Lonsbach, F. Fend et al. Plasmablastic lymphoma and related disorders. *Am J Clin Pathol* 2011; 136 : 183-194.
- (3) *Who classification of tumours of Haematopoietic and lymphoid tissues*, 2008.

■ L5- Un lymphome B à grandes cellules avec dissémination sanguine.

S. Sep Hieng (1), M. Tétégan (1), C. Terré (2), V. Raggiueau (3), C. Duboucher (4), R. Misbahi (5), L. Calmette (1), JY. Peltier (1)

1. Laboratoire d'hématologie, CHI Poissy-St Germain
2. Laboratoire de cytogénétique, CH Versailles
3. Laboratoire d'hématologie, CH Versailles
4. Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, CHI Poissy-St Germain
5. Service d'onco-hématologie, CHI Poissy-St Germain

Nous rapportons le cas d'un patient porteur d'un lymphome B à grandes cellules d'évolution agressive, avec dissémination sanguine au diagnostic.

Mr R, 59 ans, se présente aux urgences pour des douleurs de l'hypochondre gauche dans un contexte fébrile. Il est mis en évidence un hépato-splénomégalie et des adénopathies profondes. L'hémogramme est le suivant : GB = 38,9 G/l, Hb = 9,9 g/dl, VGM = 99 fl, réticulocytes = 107,2 G/l, plaquettes = 286 G/l, PNN = 60 % (23,3 G/l), L = 12 % (4,67 G/l), M = 3,5 G/l). Il est fait le constat d'une myélémie comportant 4 % de métamyélocytes, 5 % myélocytes et d'une blastose circulante à 2 %. Il existe un contingent de 10 % de lymphocytes atypiques : de taille intermédiaire, ils ont un grand rapport nucléo-cytoplasmique, une chromatine fine et des irrégularités nucléaires. Le myélogramme montre une moelle massivement infiltrée par 42 % de cellules de très grande taille, à chromatine fine d'aspect blastique et comportant des circonvolutions nucléaires, faisant évoquer une infiltration par un LNH. L'immunophénotypage médullaire montre une population de lymphocytes B CD20+ (fort), CD22+, FMC7+, CD10+. Il n'a pas été mis en évidence de chaînes légères de surface. Le caryotype médullaire est complexe et montre une translocation t(3;4)(q27;q21). L'examen histologique médullaire montre une infiltration massive par un lymphome B à grandes cellules, confirmé par l'immunohistochimie. L'évolution est agressive et le patient décède deux mois après le diagnostic, après deux cures de chimiothérapie.

Présentation clinique :

Le 11/04/2011, Mr R, 59 ans se présente aux urgences pour des douleurs épigastrique et de l'hypochondre gauche dans un contexte fébrile. Il a comme principaux antécédents médicaux un diabète de type 2 insulino-requérant avec des complications : néphropathie, neuropathie, rétinopathie, HTA, artériopathie des membres inférieurs. Ses antécédents chirurgicaux sont marqués par trois interventions sur hernie discale avec un syndrome de la queue de cheval séquellaire et une amputation trans-tibiale droite en 2008 suite à une plaie du pied. Il est hospitalisé pour une angiocholite et est traité par ROCEPHINE et FLAGYL.

Hémogramme :

A son admission, il présente la NFS suivante : GB = 38,9 G/l, Hb = 9,9 g/dl, VGM = 99 fl, réticulocytes = 107,2 G/l, plaquettes = 286 G/l

La formule sanguine est la suivante : PNN = 60 % (6,88 G/l), L = 22 % (8,56 G/l, dont 10 % de lymphocytes atypiques), M = 9 % (3,5 G/l), métamyélocytes = 4 %, myélocytes = 5 %. Les lymphocytes atypiques sont de taille intermédiaire, ont un grand rapport nucléo-cytoplasmique, une chromatine fine et des irrégularités nucléaires. On note la présence d'agglutinines froides influant sur les constantes globulaires en l'absence d'incubation à 37°C.

Cliniquement, il présente une hépato-splénomégalie sans adénopathie superficielle.

Les LDH sont élevées à 6572 U/l. L'étude des protides sériques montre une IgM kappa monoclonale quantifiée à 5,8 g/l. Le scanner thoraco-abdomino-pelvien montre une hépatosplénomégalie, des adénopathies mésentériques, et une infiltration rétro-péritonéale gauche. Les sérologies virales VIH, VHB, VHC et EBV sont négatives.

Examens complémentaires :

Une ponction médullaire est réalisée. La moelle est massivement infiltrée par 42 % de cellules de très grande taille, à chromatine fine d'aspect blastique, à grand rapport nucléo-cytoplasmique et comportant des circonvolutions nucléaires. Le cytoplasme est intensément basophile. Quelques cellules montrent des vacuoles cytoplasmiques.

L'immunophénotypage lymphocytaire médullaire montre des lymphocytes B CD20+ (fort), FMC7+, CD79b+, CD5-, CD23-, CD10-, CD43-, CD22+, CD38- et l'expression d'une IgM membranaire. Il n'a pas été mis en évidence de chaîne légère de surface. Les marqueurs d'immaturité (CD34, TdT) sont négatifs.

Le caryotype médullaire est le suivant :

46,X,Y,add(1)(q31),t(3;4)(q27;q21),del(7)(p12p21),der(17)t(1;17)(q12;p13),add(17)(p13),add(21)(p11),+mar.

L'histologie médullaire montre une infiltration massive effaçant presque totalement les éléments myéloïdes par une population de cellules d'assez grande taille, dispersées en nappe, au noyau grossièrement arrondi, irrégulier, peu hyperchromatique, et au cytoplasme moyennement abondant, basophile.

L'immunohistochimie montre une positivité des marqueurs pan B CD20 et une négativité des marqueurs EMA, CD3 et CD10, confirmant la nature lymphoïde B.

Ces éléments confirment l'infiltration médullaire par un lymphome B à grandes cellules.

Evolution et prise en charge :

Mr R reçoit deux cures de chimiothérapie (Rituximab et Endoxan, puis R-CHOP), qui se compliquent d'un syndrome d'activation macrophagique, d'une angiocholite (non opérée du fait d'une thrombopénie sévère) et d'un syndrome de lyse tumorale.

Après la sortie d'aplasie et une période d'amélioration clinique, apparaît une détresse respiratoire secondaire à un épanchement pleural gauche transsudatif, sans cellule lymphomateuse retrouvée. Devant une nouvelle reprise du syndrome de lyse tumorale et de la majoration de l'insuffisance rénale, il est décidé d'instaurer une prise en charge palliative avec des soins de confort, compte-tenu du terrain extrêmement précaire. Le patient décède deux mois après le diagnostic.

Conclusion / discussion :

Ce cas de lymphome B à grandes cellules d'évolution agressive est révélé par un hémogramme montrant une myélémie et un contingent de cellules atypiques. Les grandes cellules à chromatine fine au niveau médullaire pouvaient évoquer des blastes, mais la basophilie intense du cytoplasme et le phénotype mature orientent vers un LNH B. L'histologie médullaire a permis le diagnostic de certitude de lymphome B à grandes cellules.

Au niveau cytogénétique, le caryotype complexe montrait une translocation impliquant le bras long du chromosome 3. Un gain en 3q27 est observé plus fréquemment dans les lymphomes B à grandes cellules de type lymphocyte activé (40 %) que dans le type centre germinatif (6 %), sans corrélation avec les niveaux d'expression de bcl-6 en ARNm ou en protéine. [1] Le remaniement de bcl-2, avec la translocation t(14;18)(q32;q21) caractéristique des lymphomes folliculaires, est retrouvé dans 15 à 30 % des lymphomes B diffus à grandes cellules (DLBCL) de novo. [2][3] La translocation t(8;14)(q24;q32), caractéristique du lymphome de Burkitt, est présent dans 5 à 17 % des DLBCL de novo, et est souvent associé à un caryotype complexe. [1][2] Les translocations impliquant bcl-2 en plus de c-myc sont cliniquement plus agressifs et de mauvais pronostic car résistants au traitement. [1]

Si le diagnostic de lymphome B à grandes cellules peut être évoqué sur un faisceau d'arguments cytologiques, immunophénotypiques et cytogénétiques, le diagnostic reste histologique.

[1] Molina TJ, Le Tourneau A, Damotte D, Diebold J, Audouin J. Pathologie moléculaire des lymphomes diffus à grandes cellules B : intérêt diagnostique et pronostique pour l'histopathologiste. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2011;428(6):57-64

[2] Martelli M, et al. Diffuse large B-cell lymphoma. *Crit Rev Oncol/Hematol* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2012.12.009>

[3] Moreau A. Pièges et nouveautés en hématopathologie. Cas n°6. Lymphome B inclassable, avec caractéristiques intermédiaires entre un lymphome B à grandes cellules et un lymphome de Burkitt (OMS 2008). *Annales de pathologie*. 2012;32(1):356-362

■ L6- A propos d'un cas de présentation sanguine et médullaire d'un lymphome centrofolliculaire

L. Vila (1), A. Plesa (3), Evelyne Callet-Bauchu (3), C. Sebban (2)

1. Laboratoire d'hématologie, HEH, Lyon
2. Service d'hématologie .CLB. Lyon
3. Laboratoire d'hématologie GHLS, Lyon

Patiente de 65 ans, hospitalisée pour bilan d'une altération général associant asthénie, amaigrissement, douleurs abdominales modérées dans un contexte de thrombopénie modérée et de perturbations du bilan hépatique avec des LDH à 4500 UI/l. Un premier bilan échographie puis scanner, a permis de retrouver une masse iliaque gauche avec foie multinodulaire et aspect de carcinose péritonéale faisant suspecter un cancer métastatique de l'ovaire (marqueurs tumoraux négatifs).

Après l'instauration d'une corticothérapie apparition brutale d'une insuffisance rénale aiguë

Hémogramme : GB : 19 2G/l, HB : 11,1g/dl, Plaquettes : 40G/l avec présence d'éléments pathologiques de taille moyenne à grande au cytoplasme basophile parfois vacuolaire associant un contingent minoritaire de cellules de taille petite évoquant de cellules de Burkitt

Myélogramme : infiltré par de cellules pathologiques d'aspect polymorphe au cytoplasme intensément basophile, à la chromatine dense laissant apparaître un à plusieurs nucléoles

De nombreuses images d'apoptose sont observées. Un lymphome agressif B de type Burkitt/Burkitt like (lymphome type « gray zone) est évoqué

Immunophénotype par cytométrie en flux montre un profil de cellules centrofolliculaires avec une monotypie kappa, CD10+, CD23- et CD43-, exprimant faiblement le CD5, fortement CD20+, CD79b, faiblement CD22, fortement le CD38

Il y a également expression du FMC7

Les cellules expriment également le CD27, CD24, tandis que le CD180 est faiblement exprimé.

Le profil de cellules lymphomateuses au niveau médullaire diffère de celui observé au niveau du sang par l'absence d'expression significative du CD5 et absence du CD44

Les cellules (sang et moelle par immunocytochimie) expriment en majorité la protéine BCL2. L'index de prolifération au Ki67 est évalué à 80 % dans les cellules lymphomateuses

■ Epidémiologie des Hémopathies Lymphoïdes B Matures.

Marc Maynadié, Xavier Troussard

1. Hématologie CHU du Bocage, Dijon, France
2. Hématologie CHU Côte de Nacre, Caen, France

Les mesures et actions du plan Cancer 2009-2013, notamment la mesure 7 : « optimiser et développer le système de surveillance » ont permis d'améliorer la disponibilité des données épidémiologiques, notamment celles des hémopathies lymphoïdes B matures. Les principaux indicateurs épidémiologiques sont issus des données des registres des cancers, notamment celles du réseau Francim (France cancer-incidence et mortalité) et celles du réseau REPIH (Réseau étudiant l'Epidémiologie des Hémopathies malignes), un réseau qui réunit l'ensemble des registres spécialisés en hématologie. La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la plus fréquente des leucémies dans les pays de l'Ouest. Elle représente 1% des cancers incidents en France. En 2011, 3800 nouveaux cas incidents de LLC seront observés (estimations France 2011), dont 45% des cas chez des patients de plus de 75 ans. La prédominance masculine de la LLC est marquée (56,5%) et l'âge médian des patients au diagnostic est de 72 ans. Le taux standardisé sur la population mondiale est en 2005 de 3,6/100000 chez l'homme et de 2,0/100000 chez la femme ; il reste néanmoins stable en 2011. L'incidence de la LLC augmente avec l'âge, passant de 0,1/100000 dans la tranche d'âge 30-34 ans à 39/100000 dans la tranche d'âge 85-89 ans. Les données de survie ont été analysées en 2013 chez les 5894 patients avec une LLC enregistrée entre 1989 et 2004 (date de point au 31 décembre 2007). La survie brute (proportion de patients survivant à 1, 3, 5 ou 10 ans de la date du diagnostic, quelle que soit la cause du décès) estimée par la méthode Kaplan Meier est pour les deux sexes de 89% à 1 an, 77% à 3 ans, 65% à 5 ans (68% chez la femme ; 62% chez l'homme) et 39% à 10 ans (43% chez la femme ; 36% chez l'homme). La survie relative (SR) ou survie nette (proportion de patients survivant à 1, 3, 5 ou 10 ans de la date du diagnostic, la cause du décès étant la LLC) estimée par la méthode de Pohar-Perne est pour les deux sexes de 93% à 1 an, 85% à 3 ans, 76% à 5 ans (78% chez la femme ; 75% chez l'homme) et 55% à 10 ans (59% chez la femme ; 52% chez l'homme). Les SR à 5 ans et 10 ans diminuent avec l'âge : respectivement 84% et 65% pour la tranche d'âge 55-65 ans et 65% et 41% pour la tranche d'âge de plus de 75 ans. La SR à 10 ans est de 59% chez la femme et de 52% chez l'homme. Toutes ces données n'ont pas intégré les effets thérapeutiques efficaces des nouvelles drogues, notamment les inhibiteurs de BTK (ibrutinib) mais aussi de PI3K (idelalisib). Dans le temps imparti, nous présenterons aussi les principales données épidémiologiques descriptives des autres hémopathies lymphoïdes B matures, notamment le lymphome à cellules du manteau, les lymphomes de la zone marginale et la macroglobulinémie de Waldenström.

■ Diagnostic et classification des Hémopathies Lymphoïdes B matures.

Hélène Merle-Béral, Pascale Felman

Services d'hématologie Biologique – CHU Pitié-Salpêtrière et CHU Lyon-Sud

1ère partie : Leucémie lymphoïde chronique , Lymphocytoses B monoclonales, Leucémie Prolymphocytaire, Macroglobulinémie de Waldenström

La leucémie lymphoïde chronique (LLC), la plus fréquente des hémopathies malignes (11%) est de diagnostic aisé dans la très grande majorité des cas : il repose sur l'existence, depuis plus de 3 mois, d'une lymphocytose sanguine $> 5 \times 10^9 / L$ dont l'immunophénotype correspond à un score de Matutes $>$ ou $=$ à 4. La population lymphocytaire leucémique est habituellement monomorphe, évocatrice de petits lymphocytes matures, et s'accompagne classiquement sur le frottis de noyaux nus appelés ombres de Gumprecht. Toutefois des atypies morphologiques sont parfois observées pouvant faire discuter le diagnostic, d'autant plus que ces formes peuvent présenter un score de Matutes $<$ 4. La classification de l'OMS attribue le terme de Lymphome Lymphocytaire aux cas présentant une morphologie tissulaire et un immunophénotype caractéristiques de LLC, avec dans le sang un nombre de lymphocytes $< 5 \times 10^9 / L$. Les lymphocytoses B monoclonales (MBL) définies par une lymphocytose $< 5 \times 10^9 / L$, sont de plus en plus fréquemment observées avec les nouvelles technologies puisque des études récentes retrouvent une MBL dans 4% de la population générale après 40 ans et dans 50 à 75 % des sujets de plus de 90 ans et cette proportion s'accroît dans les familles de patients atteints de lymphoproliférations B. Si toutes les LLC sont potentiellement précédées par une MBL, les MBL sont constituées de plusieurs entités distinctes et seule une partie des MBL peut évoluer vers une LLC. L'hétérogénéité clinique de la LLC est la résultante des anomalies biologiques multiples décrites dans cette hémopathie. Certaines anomalies cytogénétiques (trisomie 12, polyploïdie..) peuvent être repérées par des aspects cytologiques évocateurs. Les nouvelles approches génomiques aboutissent à une classification génomique de la LLC en sous-groupes associés à des évolutions cliniques et des présentations biologiques particulières en cours d'identification.

La leucémie prolymphocytaire (LPL) est un syndrome lymphoprolifératif B beaucoup plus rare. Le diagnostic repose sur la mise en évidence d'une hyperlymphocytose franche constituée de plus de 55% de prolymphocytes dont l'aspect morphologique est caractéristique, dont l'immunophénotype diffère de la LLC par un score de Matutes $<$ 4 et qui est associée à des anomalies cytogénétiques multiples. Les transformations prolymphocytaires des LLC en LPL ont été exclues de la classification de l'OMS. Il existe des formes mixtes LLC/LPL avec un taux de prolymphocytes compris entre 10 et 55%.

D'autres lymphoproliférations B peuvent poser des problèmes de diagnostic différentiel avec la LLC, en particulier la Macroglobulinémie de Waldenström qui correspond à un sous-groupe du lymphome lymphoplasmocytaire, et qui se définit par une infiltration lymphoplasmocytaire dans la moelle associée à une gammopathie monoclonale IgM, et, dans certains cas, le lymphome de la zone marginale. Toutefois, les anomalies cytogénétiques récurrentes et les mutations génétiques récemment décrites apportent une aide précieuse à l'individualisation de ces pathologies.

2ème partie : Leucémie à tricholeucocytes et phase leucémique des lymphomes malins

La leucémie à tricholeucocytes est une maladie rare, qui représente 2% des hémopathies lymphoïdes leucémiques, et s'observe surtout chez l'homme avec un âge médian de 50 ans. Elle se présente avec une fréquente splénomégalie sans adénopathies et une ou plusieurs cytopénies, en particulier une neutropénie souvent marquée et une monocytopenie caractéristique tandis que les cellules néoplasiques circulantes sont le plus souvent peu nombreuses. Néanmoins leur aspect stéréotypé est suffisamment évocateur pour que le diagnostic soit le plus souvent posé avant la biopsie médullaire. Le profil immunophénotypique en CFM peut être considéré comme spécifique lorsqu'il associe une coexpression des CD11c, CD25, CD103 et CD123, ce profil distinctif étant très utile au diagnostic différentiel de certaines formes cytologiquement non typiques avec les autres lymphomes à cellules 'chevelues' (lymphome diffus de la pulpe rouge splénique ou leucémie à tricholeucocytes-Variante) ainsi que dans l'évaluation de la maladie résiduelle. Il n'apparaît ainsi pas nécessaire de compléter en pratique diagnostique courante par la recherche de la mutation de BRAF, considérée comme spécifique de l'entité au sein des SLPB. Les formes hyperlymphocytaires seraient plus souvent associées à un statut VH non muté, à l'utilisation du gène VH4-34, et à un plus mauvais pronostic.

Phase leucémique des lymphomes malins à petites cellules B

Le lymphome de la zone marginale splénique est une entité rare, (moins de 2% des lymphomes B), survenant chez l'adulte et plus souvent chez la femme de plus de 50 ans, et dont la dissémination sanguine est très fréquente, souvent révélatrice, et ne s'accompagnant pas toujours alors d'une splénomégalie clinique. L'aspect cytologique est variable, et le plus souvent non caractéristique, pouvant simuler le plus souvent une LLC atypique, parfois un lymphome du manteau, rarement un

lymphome folliculaire. La présence de cellules plus ou moins villeuses en petit nombre peut être une aide au diagnostic bien qu'elles ne soient pas totalement spécifiques, de même que la présence de cellules monocytoides, malheureusement très inconstantes. Si un profil phénotypique « négatif » CD5- CD10- CD23- CD43- permet souvent de conclure à un LZM, la positivité possible du CD5 (jusqu'à 20% des cas) doit conduire à éliminer un lymphome du manteau (LCM) par caryotype ou FISH, quel que soit l'aspect cytologique. La forte expression du CD180 dans le LZMS, récemment mise en évidence, constitue le premier marqueur positif de cette entité, et peut aider au diagnostic différentiel, son expression étant faible ou négative dans la LLC et le LCM. La présence d'anomalies cytogénétiques récurrentes telles que la délétion en 7q, une trisomie 3, une trisomie 18 peut apporter des éléments complémentaires utiles au diagnostic.

Le lymphome/leucémie à cellules B splénique, inclassable, entité provisoire de la classification OMS 2008, regroupe 2 entités, le lymphome diffus de la pulpe rouge splénique (SDRPL) et la forme variante de leucémie à tricholeucocytes (HCL-v), qui présentent un important chevauchement dans leurs caractéristiques cliniques, cytologiques, phénotypiques et moléculaires. Le SDRPL récemment décrit est un lymphome rare reconnu dans le sang par une population homogène de lymphocytes villeux (LV) typiques, présentant une infiltration diffuse de la pulpe rouge splénique et une infiltration médullaire intra-sinusoïdale faible. Habituellement CD5, CD23 et CD43 négatifs, les LV présentent une forte expression des CD11c, CD22, CD20, néanmoins inférieure à celle des tricholeucocytes, ainsi que du CD76. Le CD103 peut être positif tandis que CD25 et CD123 sont négatifs. Le CD180 est plus fortement exprimé que dans le LZMS. Des anomalies cytogénétiques, identiques à celles décrites dans le LZMS, sont rarement identifiées.

La HCL-v a été initialement définie par un aspect cytologique particulier associant un noyau de prolymphocyte et un cytoplasme de tricholeucocyte. Ses caractéristiques cliniques et biologiques, y compris moléculaires (taux de mutations élevé et biais d'utilisation de VH4-34) sont superposables à celles du SDRPL, amenant à proposer que la cellule d'origine soit identique ou proche de celle du SDRPL, et en tout cas distincte de celle de la leucémie à tricholeucocytes classique. Le lymphome folliculaire est fréquent (20% environ en Europe de l'Ouest) mais sa dissémination sanguine est rare, évaluée récemment autour de 10%, pouvant entraîner une hyperlymphocytose (40% des cas dans une série lyonnaise récente), rarement marquée. IL s'agit essentiellement de petites cellules monomorphes, parfois nettement clivées de type centrocytique, souvent moins typiques sous forme de petites cellules un peu cabossées, avec rares encoches, à chromatine très compacte non mottée et sans cytoplasme visible. L'aspect peut être trompeur avec une population plus hétérogène rendant le diagnostic difficile en l'absence de centrocytes identifiables, sans l'apport du profil immunologique, habituellement typique (CD19 +faible, CD10+ avec une intensité variable, CD38 +). Toutefois de rares cas de LF sont C10 négatifs, ce qui peut conduire à un diagnostic erroné de LZM si les centrocytes sont atypiques, avant que l'analyse cytogénétique/moléculaire sanguine mettant en évidence l'implication/réarrangement de BCL2 ou la biopsie ganglionnaire ne rétablissent un diagnostic correct. De rares cas peuvent co-exprimer le CD5.

Le lymphome des cellules du manteau est une entité rare (6% des lymphomes B de l'adulte) survenant chez l'adulte âgé avec nette prédominance masculine. La diffusion sanguine est fréquente (50 à 80%), et variable en nombre, une hyperlymphocytose étant présente chez 30 à 50% des patients. A côté de la forme classique facile à reconnaître, plusieurs variantes peuvent poser des problèmes de diagnostic différentiel avec les autres types de lymphomes à petites cellules B, en particulier la variante à petites cellules rondes à chromatine compacte orientant vers un LZM ou une LLC atypique, ou la variante pléomorphe avec grandes cellules. Si dans la grande majorité des cas, le profil phénotypique CD5+ CD23- CD43+ CD38+ est évocateur du diagnostic, quelques cas peuvent être CD5 et/ou CD43 négatifs et/ou CD38 négatifs, ce qui peut amener à un diagnostic erroné si la cytologie n'est pas typique. Par ailleurs il existe de rares cas de LCM typiques sur le plan morphologique et phénotypique, mais ne présentant pas de t(11;14) ou d'hyperexpression de la cycline D1, où l'hyperexpression nucléaire de SOX11 permet de confirmer le diagnostic. Les formes leucémiques non ganglionnaires avec ou sans splénomégalie semblent constituer un sous-groupe distinct, sur le plan cytologique, phénotypique, cytogénétique et moléculaire (statut IGVH muté dans la majorité des cas avec taux élevé de mutations et expression différente de 13 gènes dont l'absence d'expression de SOX11). Si ce groupe apparaît particulièrement indolent, il ne résume cependant pas toutes les évolutions indolentes au sein des LCM.

En conclusion la confrontation des données cytologiques et immunophénotypiques, aidées si nécessaire de la cytogénétique permet le plus souvent de proposer le diagnostic précis d'une des hémopathie lymphoïdes B matures, dominées par la LLC. Les progrès réalisés au niveau moléculaire permettent souvent actuellement d'avancer dans le diagnostic des cas non typiques ou des formes 'frontières'.

OMS 2008 : Ed Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW, World Health Organisation classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, IARC, WHO Press ; 2008

LEUCEMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE (LLC)

1ère PARTIE

Modérateurs : Alain Delmer, Gérard Sébahoun

10h00-10h45

■ Rôle du microenvironnement et voies de signalisation dans la LLC.

Florence Cymbalista

Service d'Hématologie Biologique, Hôpital Avicenne, AP-HP, UMR Université Paris13/INSERM 978, Bobigny

La grande variabilité de l'évolution de la leucémie lymphoïde chronique et l'absence actuelle de traitement éradicateur ont suscité une recherche active sur les mécanismes aboutissant à la progression de la maladie. Le défaut d'apoptose est un mécanisme connu depuis longtemps comme participant à l'accumulation du clone leucémique. Néanmoins, des études réalisées in vivo ont établi que chez les patients progressifs, la prolifération était à la base de l'accumulation du clone, avec un renouvellement cellulaire jusqu'à 1% du clone par jour. Par ailleurs, cette prolifération a lieu exclusivement au contact d'un microenvironnement, et en particulier au niveau ganglionnaire, expliquant ainsi la corrélation entre masses ganglionnaires et maladie progressive.

L'évolutivité de la LLC réside donc essentiellement dans le potentiel qu'ont les cellules de LLC à proliférer, qui dépend lui-même de leur capacité de répondre à une stimulation antigénique, et à transmettre un signal en aval du récepteur B (BCR). La stimulation du BCR se fait notamment au sein du microenvironnement ganglionnaire et l'interaction entre BCR et microenvironnement joue un rôle fondamental dans la capacité des cellules à rester dans les ganglions et à y proliférer. Afin de mieux comprendre ces mécanismes de progression de la maladie, il est important d'étudier les différentes cellules du microenvironnement ganglionnaire impliquées, et de bien analyser les différentes molécules jouant un rôle dans la voie de signalisation en aval du BCR.

La connaissance des intermédiaires de signalisation de la voie du BCR a abouti à l'utilisation clinique d'inhibiteurs spécifiques dont les résultats sont extrêmement prometteurs, puisqu'ils semblent également actifs chez des patients ayant une résistance à la chimiothérapie conventionnelle. Par ailleurs, ces inhibiteurs confirment les hypothèses physiopathologiques sur le lien entre capacité de signalisation du BCR et microenvironnement ganglionnaire en provoquant une chasse ganglionnaire des cellules de LLC dès les premières prises. Ces nouveaux inhibiteurs sont des médicaments oraux bien tolérés, qui ouvrent donc de nouvelles possibilités thérapeutiques non seulement chez les patients réfractaires mais également chez les patients les plus âgés, et/ou fragiles.

LEUCEMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE (LLC)

2ème PARTIE

Modérateurs : Florence Cymbalista, Hélène Merle Béral

11h15-12h00

■ Réarrangements des gènes immunoglobulines, voies TP53 et ATM, mutations dans la LLC.

Eric Van Den Neste

Clinique universitaire Saint Luc, Bruxelles

L'identification des patients présentant une dysfonction des mécanismes de réponse aux dommages de l'ADN (principalement les mutations et/ou la délétion de TP53 ou ATM) est importante dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC) au regard du mauvais pronostic de ces patients. Les méthodes classiques d'identification des anomalies structurales (principalement la FISH) ne permettent pas d'investiguer (1) les conséquences fonctionnelles d'une aberration chromosomique et (2) les anomalies qui n'impliquent pas TP53 ou ATM mais qui peuvent induire le même phénotype de résistance. Un test de fonctionnalité de la protéine p53 en réponse aux dommages à l'ADN aurait l'intérêt de mettre en évidence globalement l'impact des aberrations sur l'activité transcriptionnelle de p53. Les publications récentes montrent la valeur pronostique indépendante du test fonctionnel de p53. Cependant, la méthodologie de ce test n'est pas uniformisée. Le domaine des facteurs de pronostic dans la LLC a été récemment enrichi par la découverte de mutations récurrentes : NOTCH1, SF3B1 et BIRC3. Ces anomalies sont fréquemment associées à des caractéristiques graves de la maladie, à un risque de progression plus élevé et à un risque de résistance à la fludarabine et au rituximab. La recherche de ces anomalies pourrait être combinée à la FISH et permettre l'émergence d'un nouvel outil pronostique dans la LLC.

Modérateurs : Vincent Lévy, Bernard Chatelain

15h00-15h45

■ Etude de la Maladie Résiduelle.

Remi Letestu

AP-HP, Hôpital Avicenne, Service d'Hématologie Biologique, Bobigny

Au cours des dernières années, la quantification de la maladie résiduelle est devenue un des plus importants facteurs prédictifs de la PFS et de l'OS après un traitement visant l'éradication de la maladie. D'un point de vue technique, il existe deux options principales : les techniques de biologie moléculaire (BM) et de cytométrie en flux (CMF). Ces approches reposent essentiellement sur l'existence d'un immunophénotype caractéristique des cellules de LLC pour la CMF et sur la notion de clonalité lymphoïde B pour la BM.

Dans les deux cas, plusieurs méthodes sont disponibles avec des niveaux différents de sensibilité dont le choix devant être adapté selon les objectifs du traitement réalisé. Avec les progrès des approches thérapeutiques, le suivi des traitements à visée curative requiert le développement d'outils techniques sensibles. Ces techniques se doivent d'être quantitatives et de pouvoir détecter une cellule pathologique parmi au moins 10000 cellules normales ou plus ($<0.01\%$ ou 10^{-4}). Elles sont actuellement utilisées dans les essais cliniques en cours.

De nouvelles approches techniques émergent ou sont en cours d'évaluation, elles mettent en œuvre des techniques de CMF plus élaborées ou de séquençage haut débit. Enfin, certains nouveaux traitements comme les modulateurs du contrôle immunitaire antitumoral ou les inhibiteurs des voies de signalisation cellulaires présentent des particularités qui nécessiteront certainement une adaptation des critères de réponse et des modalités du suivi.

Modérateurs : Vincent Lévy, Bernard Chatelain

15h45-16h15

■ Complications de la LLC incluant le Richter et les cancers secondaires.

Karim Maloum

Service d'Hématologie Biologique, Groupe Hospitalier de la Pitié Salpêtrière, Paris

Les complications de la Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC) sont multiples et relativement fréquentes. Elles sont liées d'une part à la maladie elle-même et d'autre part aux thérapeutiques. Elles peuvent être parfois inaugurales ou le plus souvent survenir au décours de l'évolution : 1) Les complications infectieuses constituent une cause majeure de morbidité et de mortalité chez les patients atteints de LLC. La physiopathologie des infections chez ces patients est multifactorielle, en rapport avec le déficit immunitaire inhérent à la maladie mais aussi avec l'immunosuppression induite par les traitements. Ainsi, l'hypogammaglobulinémie est un facteur important prédisposant aux infections alors que les analogues des purines et les anticorps monoclonaux (Rituximab et Alemtuzumab) ont introduit un nouveau spectre de complications infectieuses causées par des pathogènes comme le *Pneumocystis*, *Listeria*, mycobactéries, *Candida* et *Aspergillus*. 2) Les cytopénies auto-immunes, notamment l'anémie hémolytique auto-immune (AHAI) survient dans 5 à 10% des cas dans la LLC. Leur survenue a été reliée récemment à des facteurs biologiques spécifiques, en particulier le profil non muté des gènes VH des immunoglobulines (UM IGHV), la del 17p et la del 11q. Si certains auteurs ont décrit une relation entre Fludarabine et AHAI, celle-ci n'a plus lieu d'être à l'ère de l'immunochimiothérapie. L'érythroblastopénie est une des causes d'anémie arégénérative compliquant la LLC. Pour le purpura thrombopénique immunologique compliquant une LLC, ces mêmes facteurs pronostiques ont été fortement associés à sa survenue (UM IGVH, del 11q et un BCR stéréotypé). 3) Le syndrome de Richter ou transformation en lymphome à grandes cellules survient dans 2.2 à 8% des cas selon les séries. Il s'agit le plus souvent d'un lymphome à grandes cellules, parfois de type Hodgkin-like. Le PET-scanner est un outil intéressant pour diriger la biopsie en cas de suspicion d'un syndrome de Richter. Le risque augmente avec le nombre de lignes de traitement de la LLC et le temps médian de survenue est de 23 mois. Sur le plan génétique et moléculaire, il s'agit dans la plupart des cas de la transformation du clone initial. Certains facteurs biologiques ont été associés à un risque augmenté de Richter, UM IGVH, HCDR3 stéréotypés, le gène VH4-39 le plus souvent associé à une trisomie 12. Ainsi le risque est particulièrement élevé si chez le même patient on retrouve l'utilisation du gène VH4-39 et un BCR stéréotypé (risque de 68.7% à 5 ans). 4) Les cancers solides ont été décrits comme étant plus fréquents chez les patients atteints de LLC. Ce risque est variable selon les séries et le type de cancer. Très récemment, Salomon et coll. ont montré qu'une survie globale diminuée est observée chez les patients avec LLC préexistante présentant un cancer solide. Enfin, des myéolodysplasie et leucémies aiguës myéloïdes secondaires sont également décrites au cours de l'évolution des LLC, essentiellement après traitement, plus particulièrement après fludarabine et agents alkylants.

■ **Le lymphome à cellules du manteau : actualités thérapeutiques**

Pr Steven Le Gouill

CHU de Nantes, Service d'Hématologie, Nantes

La prise en charge des lymphomes à cellules du manteau a connu sur ces dernières années une véritable petite « révolution ».

En effet la prise en charge thérapeutique des patients en première ligne de traitement est maintenant clairement établie face aux travaux entre autre de l'European Mantle Cell Lymphoma Network.

Chez les sujets les plus âgés le traitement de première ligne demeure le R-CHOP. La nouveauté est l'introduction d'un traitement d'entretien par Rituximab. L'étude du MCL Network (Kluin-Nelemans, New England Journal of Medicine 2012) a en effet démontré que l'injection régulière de Rituximab chez des patients en réponse après R-CHOP permettait d'allonger non seulement la survie sans progression mais aussi la survie globale. Cette étude comprenait aussi une randomisation en première ligne comparant Rituximab, Fluradabine, Endoxan à R-CHOP. Alors que les résultats au niveau moléculaire montrent que les deux traitements sont très proches, le R-CHOP se montre supérieur au Rituximab, Fluradabine, Endoxan en raison de sa moindre toxicité. Il est donc communément admis que le traitement de première ligne des sujets âgés c'est-à-dire de plus de 65 ans ou ne pouvant bénéficier d'une autogreffe est une induction par R-CHOP pour un total de 8 cures administrée tous les 21 jours suivi d'un traitement d'entretien par Rituximab jusqu'à la progression si on suit les travaux du groupe Européen.

En ce qui concerne les sujets jeunes, la nouveauté a été la démonstration de l'impact de l'Aracytine en première ligne avant la réalisation d'une autogreffe. Le consortium Européen a en effet démontré que le pourcentage de réponse après R-CHOP/R-DHAP est supérieur à celui après R-CHOP. Cet avantage en termes de réponse se traduit par un avantage en termes de survie après l'autogreffe. Cette étude de phase III qui n'est pas encore publiée met donc en exergue l'intérêt de l'Aracytine sur un schéma R-CHOP/R-DHAP avant la réalisation d'une autogreffe. Peut-on pour autant arrêter de faire du R-CHOP et ne faire que du R-DHAP chez les sujets les plus jeunes, la question a été posée dans le cadre de l'essai clinique LYMA mené par le LYSA, les résultats sont attendus d'ici deux ans.

Le traitement de première ligne a donc été modifié mais de nouvelles molécules sont apparues aussi dans la prise en charge des lymphomes à cellules du manteau. Le Torisel est actuellement la seule molécule ayant son AMM dans cette indication et elle montre en monothérapie des taux de réponses encourageants. L'évaluation du Torisel en combinaison avec la chimiothérapie est actuellement en cours. Le Velcade, le Revlimid et maintenant les inhibiteurs de tyrosine kinase mais aussi les inhibiteurs de la voie PI3 kinase sont autant de nouvelles pistes thérapeutiques prometteuses. On pourrait y ajouter la nouvelle génération d'anticorps monoclonaux ciblant le CD22 mais aussi les nouvelles générations d'anti CD20, les anti CD19 ...

Pour une pathologie relativement peu fréquente (8% des lymphomes non Hodgkiniens de l'adulte) ces avancées thérapeutiques sont remarquables ce d'autant plus qu'elles ont été faites dans le cadre d'essais cliniques. Ces travaux illustrent le transfert des connaissances biologiques vers l'application clinique. Les travaux sur la maladie résiduelle par des techniques de PCR ou de cytométrie en flux devraient aussi modifier les arbres décisionnels thérapeutiques dans les années à venir.

Les nouvelles molécules, les nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur des évaluations de la maladie résiduelle, sont autant de nouveautés qui devraient faire le lise d'une seconde « révolution ».

L'ensemble de ces travaux et les nouveautés thérapeutiques seront présentés lors de cette intervention.

■ **Leucémie à tricholeucocytes.**

Xavier Troussard

Hématologie CHU Côte de Nacre, Caen

La leucémie à tricholeucocytes (HCL) est une hémopathie maligne rare ; les données épidémiologiques montrent que l'incidence ne varie pas suivant les périodes calendaires examinées. Plus fréquente chez l'homme, son incidence est plus basse chez les asiatiques et les afro-américains. Dans la grande majorité des cas, le diagnostic de HCL nécessite un examen du frottis sanguin (aspects morphologiques des tricholeucocytes non équivoque) et un examen par cytométrie en flux (expression du CD11c, CD25, CD103 et CD123). Néanmoins dans certains cas, le diagnostic de HCL peut être difficile à distinguer des autres proliférations à cellules chevelues, notamment le lymphome diffus de la pulpe rouge de la rate (SRPL) et certaines formes de lymphome splénique de la zone marginale (MZL). Des scores immunologiques ont été développés permettant de séparer ces différentes entités : le score d'E Matutes (CD103, CD11c, CD25, HC-2/CD123) ou le score de Lyon (CD11c : RFI >25, CD22 : RFI > 130, CD76 (DBA44), CD27 et CD38). Il n'existe pas dans la HCL d'anomalie cytogénétique récurrente, malgré l'instabilité génomique. L'absence de t(11;14)(q13;q32) contraste avec l'expression de cycline D1. Les études transcriptomiques ont montré que les tricholeucocytes étaient des cellules B mémoire, même si des différences d'expression de certains gènes peuvent être observées avec les cellules B mémoire normales. Les études d'expression du profil des microARN montrent l'implication de la voie des MAP kinases, notamment la voie JNK/p38. Certains facteurs ayant un impact sur le pronostic ont été identifiés récemment ; ainsi, les patients avec une splénomégalie volumineuse, une hyperleucocytose, un nombre de tricholeucocytes circulants élevé (>5x10⁹/L), une augmentation de la B2 microglobuline (> 2N), un profil non muté des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines et une utilisation du VH4-34 ont un mauvais pronostic et une résistance habituellement aux analogues des purines (PNA). La détection de la mutation BRAFV600E dans la HCL, contrairement au SRPL et au MZL, est une aide précieuse dans les formes de diagnostic difficile. Le traitement de première ligne dans les formes symptomatiques de HCL fait appel aux PNA : pentostaine ou cladribine. Malgré l'obtention de rémissions hématologiques, la guérison n'est pas obtenue et les rechutes fréquentes justifient une surveillance prolongée, ce d'autant plus qu'une prédisposition aux cancers pourrait être observée. Dans les HCL réfractaires aux PNA, les inhibiteurs de BRAF (vemurafenib, dabrafenib) associés aux inhibiteurs de MEK peuvent être proposés et discutés : les effets secondaires, notamment les cancers cutanés et les mutations de Ras, doivent être connus et considérés avant d'entreprendre ces traitements.

■ Lymphomes de la zone marginale.

Pascale Felman

Hospices Civils de Lyon - Laboratoire d'Hématologie - CH Lyon-Sud et Université Lyon I *UMR CNRS 5239 Equipe «Pathologie des Cellules Lymphoïdes», Lyon

Les lymphomes de la zone marginale comportent 3 entités, le lymphome des tissus associés aux muqueuses (lymphome du MALT), le lymphome de la zone marginale splénique (SMZL), et le lymphome de la zone marginale ganglionnaire (NMZL). Bien que partageant une origine commune à partir de cellules B mémoires de la zone marginale, ainsi qu'un certain nombre de caractéristiques phénotypiques et génétiques, ces 3 types apparaissent comme des entités cliniques et moléculaires distinctes présentant des critères de diagnostic spécifiques, et différant par leur comportement clinique et les options thérapeutiques.

Les MZL représentent 5 à 17% des lymphomes B de l'adulte selon les séries publiées. Les lymphomes du MALT sont les plus fréquents (7 à 9% des lymphomes B et 50 à 70% des MZL), et les mieux connus sur le plan pathogénique. Les lymphomes spléniques et ganglionnaires représentent respectivement 20% et 10% des MZL et moins de 2% des lymphomes B. Certains cas se présentent avec une maladie d'emblée disséminée et ne peuvent être assignés à un groupe précis à moins qu'ils ne présentent une anomalie cytogénétique spécifique d'un type donné.

Les lymphomes du MALT. La présentation clinique varie selon la localisation (estomac 1/3 des cas, mais aussi poumon, glandes salivaires, annexes oculaires, peau, thyroïde, sein et autres localisations gastro-intestinales,) mais est le plus souvent indolente. L'âge médian est de 60 ans, avec une légère prépondérance féminine. La maladie est le plus souvent localisée, des lésions multiples étant néanmoins présentes dans 30 à 40% des cas. Le mécanisme pathogénique fait intervenir une stimulation chronique par des antigènes microbiens ou des auto-antigènes, favorisant la survenue de lésions de l'ADN au niveau de gènes cibles tous impliqués dans une même voie conduisant à l'activation de NF- κ B, facteur clé de la prolifération B. Il existe actuellement un lien documenté entre *Helicobacter pylori* (HP) et lymphome gastrique, *Campylobacter jejuni* et lymphome intestinal, *Borrelia burgdorferi* et MALT cutané, *Chlamydia psittaci* et MALT des annexes oculaires). Sur le plan morphologique, l'infiltration lymphomateuse se développe dans la zone marginale autour de follicules B réactionnels, les cellules ayant un aspect variable, simulant des centrocytes, parfois d'aspect monocytoïde, ou ressemblant à des lymphocytes; une différenciation plasmocytaire est présente avec une fréquence variable selon la localisation. Les cellules lymphomateuses expriment une IgM>IgA ou IgG, et sont CD20+, CD5-, CD23-, CD43+/- . A côté de trisomies 3 ou 18, observées dans les autres types de MZL, des translocations spécifiques mutuellement exclusives ont été mises en évidence, montrant une distribution différente selon la localisation : par exemple t(11;18)(API2/MALT1) et t(1;14)(BCL10/IGHV) présentes dans les MALT gastriques et pulmonaires, t(14;18)(IGHV/MALT1) dans les MALT pulmonaires, cutanés, des glandes salivaires et des annexes oculaires. Le traitement antibiotique entraîne la guérison dans 80% des cas de MALT gastriques HP+ et des réponses objectives dans les MALT de l'orbite, de la peau et de l'intestin. L'association chlorambucil-rituximab est efficace dans les MALT gastriques HP- avec t(11;18). Les lymphomes du MALT sont de bon pronostic, avec une survie globale à 5 ans supérieure à 85% dans la plupart des séries.

Les lymphomes de la zone marginale splénique. Maladie indolente du sujet âgé (médiane 65 ans), la plupart des patients consultent pour une lymphocytose associée à une anémie et/ou thrombopénie, dues à une séquestration splénique ou parfois auto-immunes, plutôt qu'à l'infiltration médullaire. Une splénomégalie est souvent détectable à l'examen clinique ou échographique, mais la lymphocytose isolée ou l'infiltration sanguine sans hyperlymphocytose peut être la première manifestation de la maladie. Une association au virus de l'hépatite C (HCV) a été mise en évidence dans certaines régions, en particulier l'Italie, l'interaction de la glycoprotéine E2 de l'HCV avec le CD81 présent sur les cellules B entraînant activation et prolifération des cellules B. Sur le plan morphologique, l'infiltration lymphomateuse siège dans la pulpe blanche, avec une topographie nodulaire et un mode souvent 'biphasique', les petites cellules simulant le plus souvent des lymphocytes, comme ceci est également observé dans le sang. La présence de cellules monocytoïdes est minoritaire, et quelques lymphocytes plus ou moins villeux peuvent être observés dans le sang. Si le phénotype le plus fréquent est CD5-, CD23-, CD43-, avec un score de Matutes \leq 2, la positivité du CD5 est observée dans 20 à 25% des cas. Des anomalies cytogénétiques sont présentes dans 80% des cas, incluant délétions en 7q (30 à 40% des cas), représentant une anomalie spécifique au sein des LZM, trisomie 3, trisomie 12 ou trisomie 18. La signification pronostique d'un statut VH non muté (40% des cas), par ailleurs corrélé à l'utilisation de IGHV1-2*04 et à une délétion 7q est discutée. Le traitement est nécessaire seulement chez les patients symptomatiques avec splénomégalie douloureuse, anémie ou thrombopénie marquée; le traitement de choix est la splénectomie, ou si elle ne peut être pratiquée, rituximab ou bendamustine. En cas d'infection HCV active, un traitement par IFN et ribavirine peut entraîner la rémission clinique du lymphome.

Le lymphome splénique avec nombreux lymphocytes villeux basophiles circulants, inclus précédemment dans le cadre des lymphomes spléniques à lymphocytes villeux, et caractérisé par une infiltration diffuse monomorphe de la

11h20-12h00

■ Macroglobulinémie de Waldenström.

Véronique Leblond

Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

La maladie de Waldenström (MW) est un syndrome lymphoprolifératif chronique caractérisé par une infiltration lymphoplasmocytaire de la moelle osseuse et une immunoglobuline monoclonale sérique de type IgM. La MW fut décrite en 1944 par Jan Waldenström qui rapportait deux patients avec épistaxis, anémie, adénopathies, fibropénie et hypergammaglobulinémie. La MW représente 1 à 2% des hémopathies malignes et 6% des syndromes lymphoprolifératifs B. Cependant son incidence est estimée à 3.4 par million d'habitants chez l'homme et à 1.7 chez la femme. La MW est considérée comme un lymphome lymphoplasmocytaire (LPL) dans la classification de l'OMS. La plupart des cas de LPL sont des MW, moins de 5% des cas sont associés à une immunoglobuline monoclonale de type IgG, IgA ou sont non sécrétants. La médiane d'âge est de 68 ans. L'étiologie reste inconnue mais l'existence de forme familiale est connue depuis longtemps, 20% des patients ayant une forme familiale avec d'autres cas de MW ou de syndromes lymphoprolifératifs B dans la famille. La différenciation et la survie du clone tumoral peuvent être liées à des altérations intrinsèques de la cellule tumorale mais également à des facteurs extrinsèques comme l'expression de molécules appartenant à la famille des Tumor Necrosis Factor (TNF) récepteurs sur les cellules du microenvironnement que sont les mastocytes. L'anomalie cytogénétique la plus fréquente est la délétion du bras long du chromosome 6, observée chez 30 à 40% des patients. Une mutation somatique récurrente vient d'être identifiée (MYD88 L265P) et est retrouvée dans 90 % des cellules tumorales. Cette mutation active NFκB et participe à la physiopathologie de la maladie. Les manifestations cliniques sont liées aux propriétés physico-chimiques de l'immunoglobuline, à son activité anticorps, ou à l'infiltration tumorale. L'indication d'un traitement repose sur le caractère symptomatique de la maladie. Une majorité des patients est asymptomatique et nécessite une simple surveillance. La médiane de survie est de 5 à 8 ans pour les patients symptomatiques. Lorsqu'un traitement est nécessaire, son choix dépend des comorbidités du patient, de la vitesse à laquelle la maladie doit être contrôlée, de l'existence ou non d'une neuropathie. Il repose pour les patients en bon état général sur l'association d'un anticorps monoclonal et d'une chimiothérapie (alkylant, analogue des purines) ou d'un inhibiteur du protéasome. L'autogreffe ou l'allogreffe sont réservées à des patients jeunes, avec un pronostic défavorable.