



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
RABAT



Année : 2022

Thèse N°: 37

APPORT DE LA CYTOMETRIE EN FLUX DANS LE DIAGNOSTIC ET LE SUIVI DES SLPC B

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le : / /2022

PAR

Madame Hajar BOUAOUDA

Née le 03 /11 /1997

**Pour l'Obtention du diplôme
De Docteur en Pharmacie**

Mots Clés: Cytométrie en flux, syndromes lymphoprolifératifs B, immunophénotypage

Membres du Jury :

Mr Abdellah DAMI

Professeur de Biochimie

Mr Abdelkader BELMEKKI

Professeur d'Hématologie

Mr Hafid ZAHID

Professeur d'Hématologie

Mr Hicham EL ANNAZ

Professeur de Virologie

Mr Tarik DENDAN

Professeur de Réanimation médicale

Président

Rapporteur

Juge

Juge

Juge

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالَ رَبِّ اجْعَلْ لِي آيَةً
إِنِّي كُنْتُ مِنَ الْعَالَمِينَ

صِدْقَ اللَّهِ الْعَظِيمِ

سورة البقرة الآية 32



**UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003- 2013 : Professeur Najia HAJJAJ – HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen

Professeur Mohamed ADNAOUI

Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes

Professeur Brahim LEKEHAL

Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération

Professeur Taoufiq DAKKA

Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie

Professeur Younes RAHALI

Secrétaire Général :

Mr. Mohamed KARRA

*Enseignant militaire

1 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne – Clinique Royale
Anesthésie -Réanimation
Pathologie Chirurgicale

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne – Doyen de la FMPR
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. TAZI Saoud Anas

Gynécologie -Obstétrique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZAD Rachid

Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique Méd. Chef Maternité
des Orangers

Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie- Dir. du Centre National PV Rabat
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale Doyen de FMPT
Anesthésie Réanimation
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Anatomie
Microbiologie

*Enseignant militaire

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine
Pr. BENRAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques

Doyen de la FMPA

Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale – **Directeur du CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Chirurgie Générale
Gynécologie – Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Urologie **Inspecteur du SSM**
Pédiatrie
Traumatologie – Orthopédie
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. OUZEDDOUN Naima

Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Néphrologie

*Enseignant militaire

Pr. ZBIR EL Mehdi*

Cardiologie Directeur HMI MohammedV

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BIROUK Nazha
Pr. FELLAT Nadia
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Neurologie
Cardiologie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie Directeur Hôp.Ar-razi Salé
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*

Neurologie Doyen de la FMP Abulcassis
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUAMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumo-ptisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-ptisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-ptisiologie
Neurochirurgie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie-Directeur Hôp.Cheikh Zaid
Urologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Pédiatrie

*Enseignant militaire

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik

Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Directeur Hôp. Des Enfants Rabat
Chirurgie Générale
Pédiatrie - Directeur Hôp. Univ. International (Cheikh Khalifa)
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale Directeur Hôpital Ibn Sina
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique *V-D chargé Aff Acad. Est.*
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL Fellous Sidi Zouhair
Pr. FILALI ADIB Abdelhai

Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Gynécologie Obstétrique

*Enseignant militaire

Pr. HAJJI Zakia
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RAISS Mohamed
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Ophtalmologie
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre *
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
*Enseignant militaire
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENYASS Aatif*
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Rhumatologie
Ophtalmologie

Rhumatologie *Directeur Hôp. Al Ayachi Salé*
Pédiatrie
Cardiologie
Biophysique
Cardiologie (*mise en disponibilité*)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie

*Enseignant militaire

Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*

Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie
Hématologie
O.R.L
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Directeur Hôpital Ibn Sina Marr.
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Médecine Interne
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. AMHAJJI Larbi *
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed *
Pr. BALOUCH Lhousaine *
Pr. BENZIANE Hamid *
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHERKAOUI Naoual *
Pr. EL BEKKALI Youssef *
Pr. EL ABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie cardio-vasculaire
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie

*Enseignant militaire

Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid *
Pr. ICHOU Mohamed *
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LOUZI Lhoussain *
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. OUZZIF Ez zohra *
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine *
Pr. SIFAT Hassan *
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour *
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Microbiologie
Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Hématologie biologique
Biochimie-chimie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie-orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGADR Aomar *
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *
Pr. AKHADDAR Ali *
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. BELYAMANI Lahcen *
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae *
Pr. BOUI Mohammed *
Pr. BOUNAIM Ahmed *
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
Pr. CHTATA Hassan Toufik *
Pr. DOGHMI Kamal *
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid *
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamyia
Pr. LAMSAOURI Jamal *

Médecine interne
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Neuro-chirurgie
Radiologie
Rhumatologie
Neuro-chirurgie *Directeur Hôp.des Spécialités*
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie-orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Chimie Thérapeutique

*Enseignant militaire

Pr. MARMADE Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-Phtisiologie

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anesthésie réanimation
Médecine Interne *Directeur ERSSM*
Physiologie
Microbiologie
Médecine Aéronautique
Biochimie-Chimie
Radiologie
Chirurgie Pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Plastique et Réparatrice
Urologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique

Décembre 2010

Pr. ZNATI Kaoutar

Anatomie Pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil *
Pr. BENCHEBBA Driss *
Pr. DRISSI Mohamed *
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL OUAZZANI Hanane *
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed

Chirurgie pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Traumatologie-orthopédie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina

Pharmacologie
Toxicologie

*Enseignant militaire

Pr. AMRANI HANCHI Laila	Gastro-Entérologie
Pr. AMOR Mourad	Anesthésie-Réanimation
Pr. AWAB Almahdi	Anesthésie-Réanimation
Pr. BELAYACHI Jihane	Réanimation Médicale
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain	Anesthésie-Réanimation
Pr. BENCHEKROUN Laila	Biochimie-Chimie
Pr. BENKIRANE Souad	Hématologie
Pr. BENSGHIR Mustapha*	Anesthésie Réanimation
Pr. BENYAHIA Mohammed*	Néphrologie
Pr. BOUATIA Mustapha	Chimie Analytique et Bromatologie
Pr. BOUABID Ahmed Salim*	Traumatologie orthopédie
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba	Anatomie
Pr. CHAIB Ali*	Cardiologie
Pr. DENDANE Tarek	Réanimation Médicale
Pr. DINI Nouzha*	Pédiatrie
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali	Anesthésie Réanimation
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa	Radiologie
Pr. ELFATEMI NIZARE	Neuro-chirurgie
Pr. EL GUERROUJ Hasnae	Médecine Nucléaire
Pr. EL HARTI Jaouad	Chimie Thérapeutique
Pr. EL JAOUDI Rachid*	Toxicologie
Pr. EL KABABRI Maria	Pédiatrie
Pr. EL KHANNOUSSI Basma	Anatomie Pathologique
Pr. EL KHLOUFI Samir	Anatomie
Pr. EL KORAICHI Alae	Anesthésie Réanimation
Pr. EN-NOUALI Hassane*	Radiologie
Pr. ERRGUIG Laila	Physiologie
Pr. FIKRI Meryem	Radiologie
Pr. GHFIR Imade	Médecine Nucléaire
Pr. IMANE Zineb	Pédiatrie
Pr. IRAQI Hind	Endocrinologie et maladies métaboliques
Pr. KABBAJ Hakima	Microbiologie
Pr. KADIRI Mohamed *	Psychiatrie
Pr. LATIB Rachida	Radiologie
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra	Médecine Interne
Pr. MEDDAH Bouchra	Pharmacologie
Pr. MELHAOUI Adyl	Neuro-chirurgie
Pr. MRABTI Hind	Oncologie Médicale
Pr. NEJJARI Rachid	Pharmacognosie
Pr. OUBEJJA Houda	Chirurgie Pédiatrique
Pr. OUKABLI Mohamed*	Anatomie Pathologique
Pr. RAHALI Younes	Pharmacie Galénique <i>Vice-Doyen à la Pharmacie</i>
Pr. RATBI Ilham	Génétique
Pr. RAHMANI Mounia	Neurologie
Pr. REDA Karim*	Ophtalmologie

*Enseignant militaire

Pr. REGRAGUI Wafa
Pr. RKAIN Hanan
Pr. ROSTOM Samira
Pr. ROUAS Lamiaa
Pr. ROUIBAA Fedoua*
Pr SALIHOUN Mouna
Pr. SAYAH Rochde
Pr. SEDDIK Hassan*
Pr. ZERHOUNI Hicham
Pr. ZINE Ali*

AVRIL 2013

Pr. EL KHATIB MOHAMED KARIM *

MAI 2013

Pr. BOUSLIMAN Yassir*

MARS 2014

Pr. ACHIR Abdellah
Pr. BENCHAKROUN Mohammed*
Pr. BOUCHIKH Mohammed
Pr. EL KABBAJ Driss*
Pr. EL MACHTANI IDRISSE Samira*
Pr. HARDIZI Houyam
Pr. HASSANI Amale*
Pr. HERRAK Laila
Pr. JEAIDI Anass*
Pr. KOUACH Jaouad*
Pr. MAKRAM Sanaa*
Pr. RHISSASSI Mohamed Jaafar
Pr. SEKKACH Youssef*
Pr. TAZI MOUKHA Zakia

DECEMBRE 2014

Pr. ABILKACEM Rachid*
Pr. AIT BOUGHIMA Fadila
Pr. BEKKALI Hicham*
Pr. BENAZZOU Salma
Pr. BOUABDELLAH Mounya
Pr. BOUCHRIK Mourad*
Pr. DERRAJI Soufiane*
Pr. EL AYOUBI EL IDRISSE Ali
Pr. EL GHADBANE Abdedaim Hatim*
Pr. EL MARJANY Mohammed*
Pr. FEJJAL Nawfal
Pr. JAHIDI Mohamed*
Pr. LAKHAL Zouhair*
Pr. OUDGHIRI NEZHA

Neurologie
Physiologie
Rhumatologie
Anatomie Pathologique
Gastro-Entérologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Chirurgie Pédiatrique
Traumatologie Orthopédie

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

Toxicologie

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Hématologie Biologique
Gynécologie-Obstétrique
Pharmacologie
CCV
Médecine Interne
Généologie-Obstétrique

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation

*Enseignant militaire

Pr. RAMI Mohamed
Pr. SABIR Maria
Pr. SBAI IDRISSE Karim*

AOUT 2015

Pr. MEZIANE Meryem
Pr. TAHIRI Latifa

Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

Dermatologie
Rhumatologie

PROFESSEURS AGREGES :

JANVIER 2016

Pr. BENKABBOU Amine
Pr. EL ASRI Fouad*
Pr. ERRAMI Noureddine*
Pr. NITASSI Sophia

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

JUIN 2017

Pr. ABI Rachid*
Pr. ASFALOU Ilyasse*
Pr. BOUAITI El Arbi*
Pr. BOUTAYEB Saber
Pr. EL GHISSASSI Ibrahim
Pr. HAFIDI Jawad
Pr. MAJBAR Mohammed Anas
Pr. OURAINI Saloua*
Pr. RAZINE Rachid
Pr. SOUADKA Amine
Pr. ZRARA Abdelhamid*

Microbiologie
Cardiologie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Oncologie Médicale
Oncologie Médicale
Anatomie
Chirurgie Générale
O.R.L
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Chirurgie Générale
Immunologie

MAI 2018

Pr. AMMOURI Wafa
Pr. BENTALHA Aziza
Pr. EL AHMADI Brahim
Pr. EL HARRECH Youness*
Pr. EL KACEMI Hanan
Pr. EL MAJJAOUI Sanaa
Pr. FATIHI Jamal*
Pr. GHANNAM Abdel-Ilah
Pr. JROUNDI Imane
Pr. MOATASSIM BILLAH Nabil
Pr. TADILI Sidi Jawad
Pr. TANZ Rachid*

Médecine interne
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Urologie
Radiothérapie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie-Réanimation
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Oncologie Médicale

NOVEMBRE 2018

Pr. AMELLAL Mina
Pr. SOULY Karim
Pr. TAHRI Rajae

Anatomie
Microbiologie
Histologie-Embryologie-Cytogénétique

*Enseignant militaire

NOVEMBRE 2019

Pr. AATIF Taoufiq*
Pr. ACHBOUK Abdelhafid *
Pr. ANDALOUSSI SAGHIR Khalid
Pr. BABA HABIB Moulay Abdellah*
Pr. BASSIR RIDA ALLAH
Pr. BOUATTAR TARIK
Pr. BOUFETTAL MONSEF
Pr. BOUCHENTOUF Sidi Mohammed *
Pr. BOUZELMAT HICHAM*
Pr. BOUKHRIS JALAL*
Pr. CHAFRY BOUCHAIB*
Pr. CHAHDI HAFSA*
Pr. CHERIF EL ASRI ABAD*
Pr. DAMIRI AMAL*
Pr. DOGHMI NAWFAL*
Pr. ELALAOUI SIDI-YASSIR
Pr. EL ANNAZ HICHAM*
Pr. EL HASSANI MOULAY EL MEHDI*
Pr. EL HJOUJI ABDERRAHMAN*
Pr. EL KAOUI HAKIM*
Pr. EL WALI ABDERRAHMAN*
Pr. EN-NAFAA ISSAM*
Pr. HAMAMA JALAL*
Pr. HEMMAOUI BOUCHAIB*
Pr. HJIRA NAOUFAL*
Pr. JIRA MOHAMED*
Pr. JNIENE ASMAA
Pr. LARAQUI HICHAM*
Pr. MAHFOUD TARIK*
Pr. MEZIANE MOHAMMED*
Pr. MOUTAKI ALLAH YOUNES*
Pr. MOUZARI YASSINE*
Pr. NAOUI HAFIDA*
Pr. OBTEL MAJDOULINE
Pr. OURRAI ABDELHAKIM*
Pr. SAOUAB RACHIDA*
Pr. SBITTI YASSIR*
Pr. ZADDOUG OMAR*
Pr. ZIDOUH SAAD*

Néphrologie
Chirurgie réparatrice et plastique
Radiothérapie
Gynécologie-Obstétrique
Anatomie
Néphrologie
Anatomie
Chirurgie-Générale
Cardiologie
Traumatologie-Orthopédie
Traumatologie-Orthopédie
Anatomie pathologique
Neuro-chirurgie
Anatomie Pathologique
Anesthésie-Réanimation
Pharmacie-Galénique
Virologie
Gynécologie-Obstétrique
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Radiologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
O.R.L
Dermatologie
Médecine interne
Physiologie
Chirurgie-Générale
Oncologie Médicale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Parasitologie-Mycologie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Pédiatrie
Radiologie
Oncologie Médicale
Traumatologie-Orthopédie
Anesthésie-Réanimation

2 -ENSEIGNANTS-CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Pr. ABOUDRAR Saadia
Pr. ALAMI OUHABI Naima

Physiologie
Biochimie-chimie

*Enseignant militaire

Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BARKIYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie <i>Vice-Doyen chargé de la Rech. et de la Coop.</i>
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire/Biotechnologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. RIDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie

PROFESSEURS HABILITES :

Pr. BENZEID Hanane	Chimie
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie-chimie
Pr. DOUKKALI Anass	Chimie Analytique
Pr. EL JASTIMI Jamila	Chimie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Histologie-Embryologie
Pr. LYAHYAI Jaber	Génétique
Pr. OUADGHIRI Mouna	Microbiologie et Biologie
Pr. RAMLI Youssef	Chimie
Pr. SERRAGUI Samira	Pharmacologie
Pr. TAZI Ahnini	Génétique
Pr. YAGOUBI Maamar	Eau, Environnement

Mise à jour le 09/04/2021
KHALED Abdellah
Chef du Service des Ressources Humaines
FMPR

*Enseignant militaire



REMERCIEMENTS

*A notre Maître et Président de thèse,
Mr le Professeur Ph. Col Abdellah Dami
Professeur de Biochimie*

Je vous remercie de l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider le jury de cette thèse. C'est avec grande joie que nous avons accueilli votre accord. Ce travail est une occasion pour nous d'apprécier vos qualités humaines et professionnelles. Veuillez trouver ici, Cher Maître, l'expression de mes vifs remerciements et mon admiration et de vous exprimer mon estime et profond respect.

*A notre Maître et Rapporteur de thèse,
Mr le Professeur Médecin Col A. BELMEKKI
Professeur d'Hématologie Biologique*

J'ai été touché par la bienveillance et la sympathie avec laquelle vous m'avez accueilli. Ce fût un grand honneur pour moi d'être encadrée par vous tant pour vos qualités professionnelles incontestables que pour votre soutien. Veuillez trouver ici, Cher Maître, l'expression de mes vifs remerciements et mon admiration et de vous exprimer mon estime et profond respect.

*A notre Maître et Juge de thèse,
Mr le Professeur Médecin Col Hafid Zahid
Professeur d'Hématologie et d'Immuno-Hématologie*

*Vous nous avez fait honneur en faisant partie du jury de
cette thèse. Votre compréhension, votre sympathie et
gentillesse ainsi que vos qualités humaines et
professionnelles suscitent notre admiration. Veuillez
accepter, Cher Maître, nos sincères remerciements et toute
la reconnaissance que nous vous témoignons.*

*A notre Maître, Juge de thèse,
Mr le Professeur Médecin Lt-Col Hicham EL ANNAZ
Professeur en Virologie*

*C'est pour nous un immense privilège de vous voir
accepter de Juger ce travail. Vous avez suscité notre
grande admiration Par votre compétence, votre gentillesse
et votre modestie. Veuillez trouver ici, Cher Maître,
l'expression de mes vifs remerciements et mon admiration
et de vous exprimer mon estime et profond respect.*

*A notre Maître, Juge de thèse,
Mr le Professeur Dr Tarik DENDANE
Professeur de Réanimation Médicale*

Nous sommes infiniment sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger parmi notre jury de thèse. Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude pour votre bienveillance et votre simplicité avec lesquelles vous nous avez accueillis. Veuillez trouver ici, cher Maître, le témoignage de notre grande estime et de notre sincère reconnaissance.

A DR.L. Ennefah :

*Je vous remercie pour le temps que vous m'avez accordé,
votre orientation, votre bienveillance, votre gentillesse et
votre modestie. Veuillez accepter, mes sincères
remerciements et mon profond respect.*

*A mon maitre de stage Dr EL Hachmi Bouzbib et Toute
son Equipe, j'ai beaucoup appris grâce à vous, vous
m'avez donné envie de persévérer dans ce métier pour
lequel vous m'avez donné le plus grand respect. Avec
toute ma reconnaissance, mes sincères remerciements et
mon profond respect.*



DÉDICACES

Je dédie cette thèse A.

*A Allah tout puissant,
Qui m'a guidé dans le bon Chemin,
Louanges et remerciements pour votre clémence et
miséricorde.*

A Mes Très chers Parents

Bouaouda Bouzekri et Laafou Lillah Fatima

*Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense
Amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je
vous témoigne pour tous les efforts que vous n'avez
jamais cessé consentir pour mon bien-être.*

*J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés
En moi et réalisé aujourd'hui l'un de vos rêves.*

*Je vous dédie ce travail, avec tous mes sentiments de
respect et de reconnaissance.*

*Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé,
bonheur et longue vie.*

A mes chères sœurs Salma Bouaouda et Sara Bouaouda,

*A mon cher frère Aiman Bouaouda, pour leurs
encouragements permanents, leur appui et leur soutien
moral, Ils m'ont permis de réaliser que la famille est
sacrée. Ils étaient pour moi, une vraie source
d'inspiration et ont été toujours à mes côtés durant les
moments difficiles.*

*Mes mots ne seraient jamais à la hauteur de l'amour et
l'affection que vous m'avez témoignée. J'aimerais vous
exprimer toute ma gratitude et reconnaissance.*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon
parcours universitaire,*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant
allégués, et le fruit de votre soutien infailible, Merci
d'être toujours là pour moi.*

*A mes amies Imane, Kawtar, Aya, qui m'ont toujours
motivée et encouragée.*

*A nos nuits blanches de préparation, nos fous rires et
tous les bons moments passés ensemble je vous souhaite
une vie pleine de réussite et de bonheur.*

*A mes amies d'enfance Mona et Fatima Ezzahra, Nous
sommes restées amies dans les hauts et les bas de nos vies
je vous souhaite une vie pleine de réussite et de bonheur.*

A tous mes amis,

*Enfin, je ne pourrais oublier tous les camarades de la
même promotion Ils ont contribué à cette réussite et je
tiens également à leur souhaiter le meilleur. »*

*À tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis
involontairement de citer.*

À Tous Mes enseignants tout au long de mes études.

*À tous ceux qui ont participé de près ou de loin
À la réalisation de ce travail.*

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Hématopoïèse humaine.....	5
Figure 2: Les cellules précurseurs du sang peuvent être divisées en quatre classes principales selon Leur capacité à se différencier en différents types cellulaires et leur capacité d'auto-renouvellement.	7
Figure 3: Facteurs de croissance impliqués dans l'hématopoïèse	9
Figure 4: Calendrier d'évolution du système hémato-lymphoïde durant le développement prénatal chez l'homme	10
Figure 5 : Les différents stades en fonction du réarrangement des gènes et des marqueurs de différenciation.	11
Figure 6: Les différentes fonctions des lymphocytes B mémoires.	14
Figure 7: Correspondance entre les différents stades de différenciation des cellules lymphoïdes B humaines et leur contrepartie lymphomateuse.....	16
Figure 8: Le fluorochrome anti CD3 reconnaît et se fixe sur la CD3 molécule de surface du lymphocyte T, suite à son excitation il émet une fluorescence.....	22
Figure 9: Diffusion de la lumière La FSC est proportionnelle à la taille alors que la SSC est proportionnelle à la granularité et la complexité interne	22
Figure 10: Représentation schématique du système de focalisation hydrodynamique qui permet de séparer les objets à étudier.....	23
Figure 11: Description d'un cymomètre en flux	25
Figure 12 : Génération de fluorescence.....	25
Figure 13: Principe de la cytométrie de flux.	26
Figure 14: Explication de la compensation de fluorescence en utilisant deux fluorochromes imaginaires A et B.....	28
Figure 15: Effet de la compensation de fluorescence	29
Figure 16: L'immunofluorescence primaire ou directe.	30
Figure 17: L'immunofluorescence secondaire ou indirecte.....	30
Figure 18: Tri des cellules par déviation des gouttelettes	32

Figure 19: Diagrammes de dispersion affichant le FSC (axe X) et le SSC (axe Y) du sang périphérique total lysé.	33
Figure 20: Stratégie de gating pour définir les sous-ensembles de lymphocytes.....	34
Figure 21: Un exemple de staging dans lequel l'analyse de flux de couleur unique est montrée avec l'axe X étiqueté avec le nom du marqueur cellulaire fluorescent, PLS3, sur une échelle logarithmique et le nombre de comptes du marqueur sur l'axe Y.....	34
Figure 22: Un histogramme à un paramètre unique. L'axe des x représente la valeur du signal du paramètre en nombre de canaux (Count) et l'axe des y représente le nombre d'événements par numéro de canal (cellules IL17+)	35
Figure 23: Les cellules mononucléaires du sang périphérique ont été marquées avec des anticorps CD4 et CD3.	36
Figure 24: Un modèle pour le développement de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) :	44
Figure 25: Signalisation BCR dans la LLC.....	48
Figure 26: Interactions entre les différents mécanismes aboutissant à la prolifération des cellules LLC in vivo	48
Figure 27: Aspect du frottis sanguin montrant A : petits lymphocytes typiques de la LLC et présence d'ombres de Gümprrecht ; B : lymphocytes de LLC avec un rapport nucléocytoplasmique plus faible.	51
Figure 28: Aspect cytologique de la LLC comparé à celui de la leucémie aigue	51
Figure 29: Profil immunophénotypique d'une LLC.....	53
Figure 30: Cellules lymphoïdes matures similaires à celles observées dans la leucémie lymphoïde chronique.....	56
Figure 31: Profil immunophénotypique d'une lymphocytose monoclonale à cellules B (MBL) de type leucémie lymphoïde chronique (LLC) par cytométrie en flux.....	57
Figure 32: Profil immunophénotypique identique mais signification biologique différente dans la LC-MBL, la HC-MBL et la LLC.....	58
Figure 33: Prolymphocytes dans le frottis sanguin de patients atteints de leucémie prolymphocytaire B (A et B). Certains prolymphocytes montrent des granules cytoplasmiques (A, flèche verte) ou inclusions (A, flèche noire).....	61
Figure 34: Leucémie prolymphocytaire.	61

Figure 35: Résultats de cytométrie en flux de leucémie prolymphocytaire B.	62
Figure 36: Un modèle proposé de pathogenèse moléculaire et de progression de la MCL.....	66
Figure 37: MCL à croissance diffuse.	68
Figure 38: (A) MCL in situ avec quelques lymphocytes positifs à la cycline D1 localisés à proximité d'un petit centre germinatif résiduel. (B) MCL avec modèle de croissance de la zone du manteau. Une zone du manteau proéminente constituée de lymphocytes positifs.....	69
Figure 39: Atteinte de la moelle osseuse du MCL. Les nodules des cellules tumorales sont facilement identifiés par coloration pour la cycline D1 (A) et SOX11 (B)	69
Figure 40: Les cellules lymphomateuses B apparaissant en rouge sont monotypiques lambda de forte intensité, CD5+, CD79+, FMC7+, CD23-. Ce phénotype est compatible avec le diagnostic de lymphome du manteau.	70
Figure 41: Résumé des principales caractéristiques génétiques et biologiques caractérisant les lymphomes de la zone marginale.	74
Figure 42: Spécificités de chacun des sous types du lymphome de la zone marginale	75
Figure 43: Histologie du LZMG (NMZL) : Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine, montrant une architecture nodulaire à faible puissance (A), avec des follicules résiduels reconnaissables à une puissance plus élevée (flèche) (B)	78
Figure 44: Histologie du LZMG les cellules du lymphome sont constituées de petites cellules avec peu de cytoplasme et de noyaux ronds à indentés avec une structure de chromatine fine (lymphocytaire/centrocytique) (C).....	79
Figure 45: Phénotype compatible avec le Diagnostic du lymphome de la zone marginale.....	80
Figure 46: Les cellules tumorales expriment CD20, BCL2 (centre germinatif BCL2 négatif en partie colonisé) n 'expriment pas CD5 et expriment une IgM intracytoplasmique	81
Figure 47: La population marginale à différenciation plasmocytaire Kappa colonise en partie le centre germinatif (CG).	81
Figure 48: Morphologie du lymphome de la zone marginale splénique dans la rate.....	84
Figure 49: Caractéristiques immunophénotypiques du lymphome de la zone marginale splénique (MZLS) impliquant la rate.	86
Figure 50: Micrographies représentatives des lymphomes du tissu lymphoïde associé à la muqueuse (MALT).....	87

Figure 51: L'origine et la Pathogenèse du tricholeucocytes.	91
Figure 52: Cytologie et histologie de la moelle osseuse de la leucémie à tricholeucocytes	93
Figure 53: Immunophénotypage de la leucémie à tricholeucocytes par cytométrie en flux	94
Figure 54: Population monomorphe de lymphocytes villeux. Histologie splénique infiltration diffuse de la pulpe rouge avec disparition de la pulpe blanche.....	96
Figure 55: Immunophénotypage par cytométrie en flux différenciant LZM de SDRLP.....	96
Figure 56: May Grunwald Giemsa a coloré les frottis sanguins périphériques de deux patients atteints de HCL-V.	98
Figure 57: Parcelles de points représentatives de l'immunophénotypage typique de HCL-v .	98
Figure 58: La cellule MW pourrait provenir d'un précurseur somatiquement muté "semblable à la mémoire" qui a perdu les marqueurs de mémoire classiques tels que CD27 en raison de l'excrétion de la surface.	101
Figure 59: Prolifération diffuse faite de petits lymphocytes B matures, De lymphoplasmocytes et de plasmocytes.	103
Figure 60: Caractéristiques morphologiques du lymphome lymphoplasmocytaire/ macroglobulinémie de Waldenström.	104
Figure 61: Immunophénotypage de la moelle osseuse par cytométrie en flux.....	105
Figure 62: Pathogenèse du MGUS et Myélome multiple.	109
Figure 63: Spécimen de moelle osseuse d'un patient atteint de MGUS (coloration May-Grunwald-Giemsa).....	110
Figure 64: Comparaison de l'expression de CD19 et CD56 dans les plasmocytes de la gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS).....	111
Figure 65: Analyse immunophénotypique de la gammopathie monoclonale de signification indéterminée.	111
Figure 66 : Présentation histologique de la maladie de chaînes lourdes alpha	114
Figure 67 : Présentation histologique la maladie des chaînes lourdes gamma	117
Figure 68: Caractéristiques morphologiques de la MCL μ : des plasmocytes vides	120
Figure 69: A aspiration de moelle osseuse montrant un nombre accru de plasmocytes, y compris des formes volumineuses et immatures (flèches). B biopsie par trépanoponction médullaire montrant une infiltration de plasmocytes malins.	126

Figure 70: Profil immunophénotypique de plasmocytes du Myélome multiple.	127
Figure 71: Maladies rénales avec dépôt d'immunoglobulines monoclonales ou de leurs composants.	132
Figure 72: Caractéristiques morphologiques classiques du lymphome folliculaire.	135
Figure 73 : Un cas représentatif de l'immunophénotype du lymphome folliculaire.	137
Figure 74: Lymphome folliculaire de type duodénal. (A) Sections colorées H&E de biopsie duodénale montrant de grands follicules néoplasiques avec (B) coloration uniforme par CD20.	138
Figure 75: Morphologie du lymphome folliculaire testiculaire primitif.	139
Figure 76: Caractéristiques histologiques du LF chez les enfants et les jeunes adultes.	141
Figure 77 : Lymphome primitif à cellules centrales du follicule cutané. Prolifération nodulaire de follicules néoplasiques dans le derme (H&E), mais pas d'expression de BCL2.	143
Figure 79: Exemple de MRD positive à 0,2 %	146
Figure 80: Le Diagnostic différentiel des troubles lymphoprolifératifs B CD5+.	149

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Caractéristiques des fluorochromes les plus utilisés.....	27
Tableau 2: Antigènes d'intérêt dans le diagnostic et le suivi des syndromes lymphoprolifératifs chroniques B.....	40
Tableau 3: Classification OMS 2016 des néoplasies B matures	43
Tableau 4: Stades cliniques selon Rai et Binet	50
Tableau 5 : Système de notation pour le diagnostic différentiel des maladies chroniques leucémie lymphoïde (LLC)	53
Tableau 6: Diagnostic différentiel de B-PLL par immunophénotypage.....	63
Tableau 7: Résumé des caractéristiques des LZMs contribuant à leur Diagnostic différentiel.....	89
Tableau 8: Diagnostic différentiel entre HCL, HCL-v et, SMZL et SDRLP.....	99
Tableau 9: Caractéristiques de différenciation entre la MW et d'autres syndromes lymphoprolifératifs	106
Tableau 10: Critères de Diagnostic de différenciation entre MGUS, myélome multiple, macroglobulinémie de Waldenström et Amylose primaire.....	112
Tableau 11: Description des différentes maladies de chaînes lourdes.....	122
Tableau 12 : Caractéristiques immunophénotypiques des cellules des maladies des chaînes lourdes	123
Tableau 13: Présentation des différentes variantes de Lymphome folliculaire	143
Tableau 14 :Différentes méthodes de mesure de la maladie résiduelle minimale	145
Tableau 15: Comparaison des performances des panels étudiés pour la mesure de maladies résiduelle minimale LLC (volume par test entre parenthèses).....	147
Tableau 16: Panel étudié à 14 couleurs pour la mesure de la MRD LLC.....	148

LISTE DES ABREVIATIONS

CSH : Cellules souches hématopoïétiques
CFU-GEMM : Colony Forming Unit Granulocyte, Érythrocytes, Monocytes et
Mégacaryocyte
CFU-GM : Colony Forming Unit Granulocyte Monocytes
CFU-E : : Colony Forming Unit Érythrocytes
CFC-Meg : Colony Forming Cells Mégacaryocyte
CFU-Eo : Colony Forming Unit Eosinophiles
CFU-Bas : Colony Forming Unit Basophiles
BCR : B Cell Receptor
B-PPL : Leucémie à prolymphocytes
CD : Cluster de différenciation
SIg : Immunoglobuline intracytoplasmique
CLL / LLC : Leucémie lymphoïde chronique
CMF : Cytométrie en flux
DLBCL : Lymphome B diffus à grandes cellules
FITC : Isothiocyanate de fluorescéine
FL : Lymphome folliculaire
HCL : Leucémie à tricholeucocytes (Hairy Cell Leukaemia)
HCLv : Leucémie à tricholeucocytes variante
Ig : Immunoglobuline
IgG : Immunoglobuline de type G
IgM : Immunoglobuline de type M
Igs : Immunoglobulines
IHC : Immunohistochimie
IMF : Intensité moyenne de fluorescence
LPL : Lymphome lymphoplasmocytaire
LV : Lymphocyte villeux
MALT : Mucosa-associated lymphoid tissue
MBL : Lymphocytose B monoclonale

LCM /MCL : Lymphome du manteau (Mantle Cell Lymphoma)

MW : Macroglobulinémie de Waldenström

MZL : Lymphome de zone marginale

MZLN : Lymphome de zone marginale ganglionnaire

OMS : Organisation mondiale de la santé

PBS : Tampon phosphate buffer Saline

PE : R-phycoérythrine

PE-Cy5 : PE-cyanine 5

PE-Cy7 : PE-cyanine 7

PerCP : Peridinine chlorophylle-protéine

PerCP-Cy5.5 : PerCP-cyanine 5.5

PMT : Photomultiplicateur

RAG : Recombination activating genes

SFH : Société française d'hématologie

sIg : Immunoglobulines de surface

SLPC B: Syndrome lymphoprolifératifs chroniques B

SLVL : Lymphome splénique à lymphocytes villeux

SMZL : Lymphome splénique de zone marginale

SRPL : Lymphome B diffus splénique de la pulpe rouge

SLL : Lymphome lymphocytaire

MRD : Maladie résiduelle minimale

IgM : Immunoglobuline M

IgD : Immunoglobuline D

NK : Natural Killer

CD : Clusters de Différentiation

Ac : Anticorps

IL : Interleukines

FSC : Forward Scatter

SSC : Side Scatter

PMT : photomultiplicateurs

FACS : Fluorescence activated cell sorting

PBMC : Peripheral blood Mononuclear cells

BCR : B-Cell Receptor

EBV : Le virus d'Epstein-Barr

MBCN : Néoplasmes à cellules B matures

LNH : Lymphomes non hodgkiniens

TNF : Facteurs de nécrose tumorale

FISH : L'Hybridation fluorescente in situ

IGHV : Immunoglobulin heavy chain variable region

SOMMAIRE

8-3 Identification des syndromes lymphoprolifératifs B :	37
CHAPITRE 3 : CLASSIFICATION DES SYNDROMES LYMPHOPROLIFERATIFS B	
ET APPLICATION DE LA CYTOMETRIE EN FLUX DANS LEUR DIAGNOSTIC ...	41
1-Généralités :	42
2-La leucémie lymphoïde chronique (LLC) à cellules B :	43
2-1 Incidence :	45
2-2-physiopathologie.....	45
2-2-1 Rôle du microenvironnement :.....	45
2-2-2 Rôle des anomalies génétiques :	46
2-2-3 Rôle des antigènes dans la sélection des cellules B de la leucémie :.....	46
2-2-4 Rôle des voies de signalisation :	47
2-3 Présentation clinique de la maladie :	49
2-4 Critères de Diagnostic :.....	50
2-4-1 Cytologie :.....	51
2-4-2 Immunophénotypage par cytométrie en flux :.....	52
3- Lymphocytose Monoclonale B Type LLC / Type non LLC :	54
3-1 Incidence :	54
3-2 Pathogénèse :	55
3-3 Présentation clinique :.....	55
3-4-1Cytologie :.....	56
3-4-2 Immunophénotypage par cytométrie en flux :.....	56
4-Leucémie polylmphocytaire B :	58
4-1-Incidence :.....	59
4-2-Physiopathologie :	59
4-3- Présentation clinique de la maladie :	59
4-4- critères diagnostique :.....	60
4-4-1 Cytologie :.....	60
4-4-2 Immunophénotypage par cytométrie en flux :.....	62
4-4-3 Cytogénétique :.....	63
4-4-4 Diagnostic différentiel :	63

5- Lymphome de manteau :	64
5-1 Incidence :	64
5-2 Physiopathologie :	65
5-2-1-pathogénèse :	65
5-2-2 Rôle du BCR :	66
5-3 Présentation clinique de la maladie :	67
5-4 critères diagnostique :	67
5-4-1 Cytologie :	68
5-4-2 Immunophénotypage par cytométrie en flux :	69
6-Lymphomes de la zone marginale (LZM) :	70
6-1-Incidence :	71
6-2- Physiopathologie :	71
6-3 Présentation clinique :	75
6-4-Critères de Diagnostic :	77
7-Leucémie à tricholeucocytes (Hairy cell Leukaemia) :	89
7-1 Incidence :	90
7-2 Physiopathologie :	90
7-3 Présentation clinique :	91
7-4 Critères diagnostique :	92
7-4-1 Morphologie :	92
7-4-2 Critères cytogénétiques et moléculaires :	93
7-4-3 Immunophénotypage par cytométrie en flux :	94
8-Autres lymphomes spléniques à cellules B :	95
8-1 Lymphome splénique à petites cellules B de la pulpe rouge diffuse SDRLP :	95
8-2 Leucémie à tricholeucocytes variante :	97
9- Lymphome lymphoplasmocytaire / MACROGLOBULINÉMIES de Waldenström :	
.....	100
9-1 Incidence :	100
9-2 Physiopathologie :	100
9-3 Présentation clinique :	102

9-4 Critères de Diagnostic :	103
9-4-1 Cytologie :	103
9-4-2 Critères génétiques et moléculaires :	104
9-4-3 Immunophénotypage par cytométrie en flux :	105
9-4-4 Diagnostic différentiel :	106
10-Gammapathie monoclonale de signification INDÉTERMINÉE (MGUS) :	106
10-1 Incidence :	107
10-2 Physiopathologie :	107
10-3 Présentation clinique :	109
10-4 Critères de Diagnostics :	109
10-4-1 Cytologie :	110
10-4-2 Critères cytogénétiques et moléculaires :	110
10-4-3 Immunophénotypage par cytométrie en flux :	110
10-4-4 Diagnostic différentiel :	112
11-Maladie des chaînes lourdes :	112
11-1 Maladie des chaînes lourdes alpha :	113
11-1-1 Incidence :	113
11-1-2 Pathogenèse :	113
11-1-3 Présentation clinique :	114
11-1-4 Critères de Diagnostic :	114
11-2 Maladie des chaînes lourdes γ :	116
11-2-1 Incidence :	116
11-2-2 Pathogenèse :	116
11-2-3 Présentation clinique :	116
11-2-4 critères diagnostique :	117
11-3 Maladie des chaînes lourdes μ :	119
11-3-1 incidence :	119
11-3-2 Pathogenèse :	119
11-3-3 Présentation clinique :	119
11-3-4 Critères de Diagnostic :	120

11-4 Maladie de chaînes lourdes δ :.....	121
11-5 Immunophénotypage par cytométrie en flux :.....	123
12- Le myélome multiple :.....	123
12-1 Incidence :.....	123
12-2 Pathogenèse :	124
12-3 Présentation clinique :.....	125
12-4 Critères de Diagnostic :.....	125
13- Plasmocytome solitaire :.....	127
13-1 Pathogenèse :	127
13-2 Plasmocytome solitaire osseux	128
13-2-1 Incidence :.....	128
13-2-2 Présentation clinique :.....	128
13-2-3 Critères de Diagnostic :.....	129
13-3 Plasmocytome extramédullaire :.....	129
13-3-1 Incidence :.....	129
13-3-2 Présentation clinique :.....	129
13-3-3 Diagnostic :.....	130
14- La maladie des dépôts d'immunoglobulines monoclonales :.....	131
15- Lymphome folliculaire :	133
15-1 incidence :.....	133
15-2 Pathogenèse :	133
15-3 Présentation clinique :.....	134
15-4 Diagnostic :	135
15-4-1 Histologie :.....	135
15-4-2 Critères cytogénétiques et moléculaires :	136
15-4-3 Immunophénotypage par cytométrie en flux :.....	136
15-5 Lymphome folliculaire duodénal :.....	137
15-6 Lymphome folliculaire testiculaire :.....	138
16- Lymphome folliculaire pédiatrique :.....	140
17- Lymphome cutané centro-folliculaire primitif :	142

18- APPORT de la CMF dans le suivi des SLPC B :	144
18-1- Suivi de la LLC :	144
18-2 Suivi des autres SPLC B :	148
CONCLUSION	151
RESUMES	153
BIBLIOGRAPHIE	157

INTRODUCTION

Les troubles lymphoprolifératifs (LPD) sont des affections plutôt courantes qui peuvent être des maladies chroniques et indolentes ou agressives. Leur diagnostic peut être motivé par l'apparition d'une hypertrophie des ganglions lymphatiques ou splénomégalie, asthénie et cytopénie ou même être découvert fortuitement comme une lymphocytose lors d'une numération globulaire complète du sang périphérique. L'examen morphologique est le premier examen de laboratoire suggérant une telle affection, attestant d'un pourcentage accru et/ou d'un nombre absolu des lymphocytes anormaux. Ceci incite à réaliser des investigations immunophénotypiques qui révéleront, dans la plupart des cas, la présence de cellules B monotypiques. La dernière décennie a vu des avancées majeures dans l'immunophénotypage par cytométrie en flux et cela a élargi l'utilité de la cytométrie en flux pour étudier les antigènes présents sur cellules hématopoïétiques normales et néoplasiques. Cette revue résume l'application de la cytométrie en flux dans le diagnostic et la prise en charge des syndromes Lymphoprolifératifs B. L'analyse des tumeurs présumées à cellules B par cytométrie en flux passe par quatre étapes bien définies. La population de lymphocytes B est identifiée et la synchronisation établie ; le stade de développement des lymphocytes B représenté dans l'échantillon est évalué ; la clonalité de La population de cellules B est identifiée et enfin un phénotype composite détaillé est produit qui comprend l'identification du marqueur spécifique de la tumeur.

CHAPITRE 1 : RAPPEL SUR
L'HÉMATOPOÏÈSE ET LA LYMPHOPOÏÈSE
NORMALES

1-L'HÉMATOPOÏÈSE :

Il s'agit d'un phénomène physiologique, dynamique et continu qui assure une production quotidienne de 440 milliards de cellules sanguines menant à la production de plus de 200 milliards d'hématies, d'environ 200 milliards de plaquettes avec une demi-vie de 8 jours et de 40 milliards de leucocytes avec une demi-vie allant de 8 heures pour les polynucléaires neutrophiles à des mois ou des années pour certaines sous-populations lymphocytaires. Cette activité éminente de production est assurée par une petite population de cellules dites cellules souches hématopoïétiques. Chez le fœtus, l'hématopoïèse commence au niveau du tissu conjonctif embryonnaire jusqu'au 2^{ème} mois, s'effectue dans le foie et la rate du 2^{ème} au 6^{ème} mois, ensuite devient médullaire (dans les os) à partir du 4^{ème} mois concordant avec le développement des ébauches des os. Sa localisation devient exclusivement dans la moelle osseuse après la naissance. Jusqu'à l'âge de 5 ans, tous les os ont une activité hématopoïétique. Par la suite l'hématopoïèse se limite aux os plats : sternum, côtes, vertèbres, bassin et crâne¹. L'hématopoïèse passe par 4 étapes successives ; les cellules souches totipotentes pouvant se différencier en différents types de cellules du sang, les cellules souches progénitrices engagées dans un lignage cellulaire, les précurseurs se divisent et mûrissent, et finalement les cellules matures fonctionnelles qui passent dans le sang et ne se divisent plus. Le passage d'une étape à une autre est sous influence de signaux (cytokines et autres).

Deux types principaux de cellules progénitrices multipotentes dérivent de la cellule souche hématopoïétique pluripotente :

- Cellules progénitrices lymphoïdes, qui donnent naissance aux différents types de lymphocytes (cellules B et T)
- (CFU-GEMM ou CFU-MIX) cellules progénitrices granulocyte/ érythroïde/ monocytes/ mégacaryocyte, qui génèrent les principaux types de cellules sanguines.

Les types de cellules progénitrices engagées dérivées des cellules multipotentes CFU-GEMM (CFU-MIX) sont :

- Érythroïde (CFU-E), qui donne naissance aux précurseurs des globules rouges
- Cellules progénitrices granulocytes/monocytes (CFU-GM), qui donnent naissance aux granulocytes et aux monocytes en formant d'autres sous-ensembles de cellules progénitrices spécifiques (CFC-G et CFC-M)

- Les éosinophiles (CFU-Eo), qui donnent naissance aux éosinophiles
- Les basophiles (CFU-Bas), qui donnent naissance aux basophiles
- Les mégacaryocytes (CFC-Meg), qui donnent naissance aux mégacaryocytes (et donc aux plaquettes)²

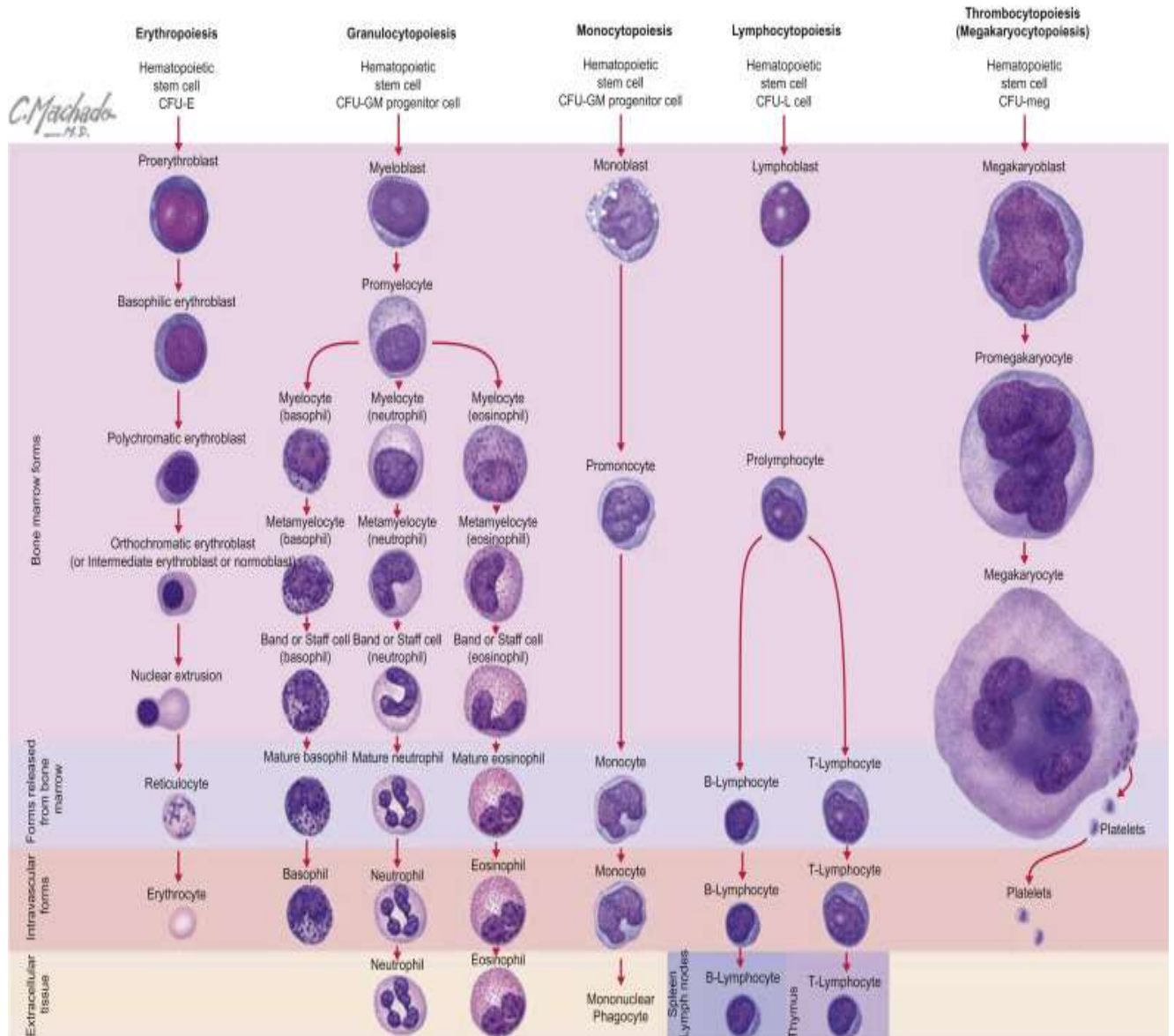


Figure 1: Hématopoïèse humaine³

Tous les éléments cellulaires du sang proviennent d'une cellule souche progénitrice pluripotente commune (CSH). Ces cellules souches pluripotentiels se trouvent en très petit nombre dans les sites de formation de cellules sanguines, des nombres encore plus petits peuvent être trouvés dans le sang périphérique. Histologiquement, elles ressemblent à des lymphocytes, mais peuvent être identifiées par des techniques immunohistochimiques puisqu'elles ont des antigènes de surface cellulaire distincte. Les cellules pluripotentes se divisent et donnent naissance à des cellules avec une ligne de croissance plus restreinte. Il est possible de diviser les cellules hématopoïétiques en quatre groupes en fonction de leur capacité d'auto-renouvellement, division cellulaire et capacité de former différents types de cellules. Les cellules souches pluripotentes sont capables de former tout type de cellule sanguine et sont à l'origine des cellules souches primitives ou CFU (Colony Forming Unit). Les cellules progénitrices multipotentes sont capables de proliférer en se différenciant sous l'effet de facteurs de croissance et forment une gamme spécifique mais large de cellules sanguines. Ces cellules vont perdre progressivement leur capacité d'auto-renouvellement au fur et à mesure qu'elles se différencient. Les cellules progénitrices sont capables de former seulement un ou deux types de cellules sanguines. Les précurseurs en voie de maturation subissent une différenciation structurelle pour former un seul type cellulaire et sont donc incapables de se diviser, elles ont une capacité de multiplication (amplification) : 3 à 5 mitoses par cellules permettant d'obtenir des cellules matures. Elles sont reconnaissables morphologiquement mais aussi par leur ag de surface via le myélogramme ou la cytométrie de flux : Glycophorine A pour la lignée érythroïde, CD19 pour les LB, CD3 et CD7 pour les LT, CD13 et CD33 pour la lignée granulomonocytaire. A la fin de ce processus, les cellules traversent la barrière médullaire et se retrouvent dans la circulation sanguine.⁴

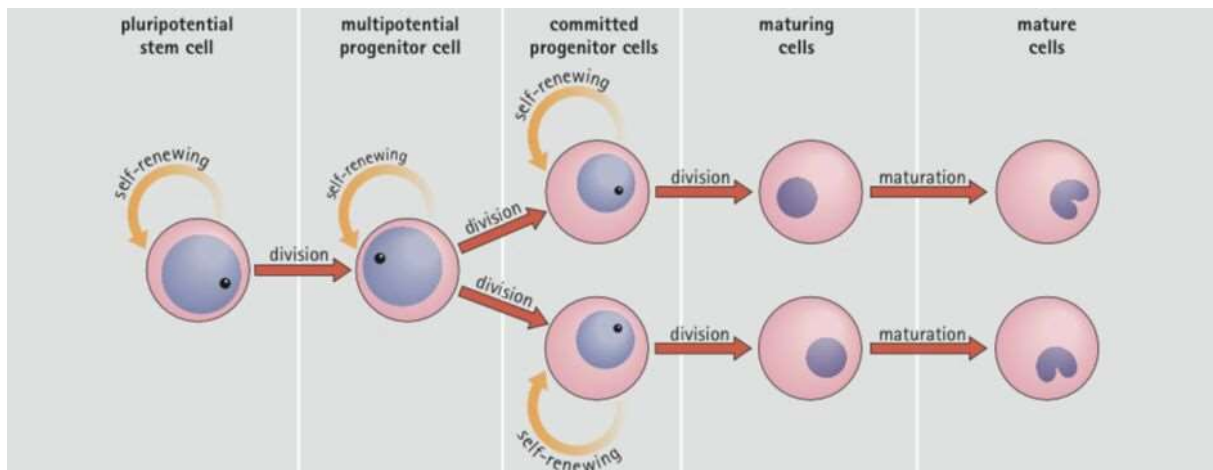


Figure 2: Les cellules précurseurs du sang peuvent être divisées en quatre classes principales selon leur capacité à se différencier en différents types cellulaires et leur capacité d'auto-renouvellement.⁵

L'hématopoïèse est soumise à un contrôle et une régulation à tous les niveaux :

Le micro environnement (ou stroma) fait partie de La niche hématopoïétique qui est source de facteurs de croissance, molécules inhibitrices et molécules d'adhésion. Elle est constituée du stroma, de la MEC et des CSH. C'est un tissu de soutien et de nutrition. La niche est composée de cellules mésenchymateuses (niche périvasculaire), d'ostéoblastes (niche en ostéale) et de cellules endothéliales des sinusoides (niche vasculaire). C'est une structure anatomique et fonctionnelle qui procure aux cellules souches les conditions anatomiques et intercellulaires satisfaisantes pour assurer l'hématopoïèse.

Les facteurs de croissance cytokines ou interleukines ceux sont des glycoprotéines agissant comme des hormones. Elles sont synthétisées dans le stroma sauf l'EPO (rein) et la TPO (thrombopoïétine par le foie). Elles peuvent être responsables d'une régulation positive et négative. Elles sont responsables de l'expression de facteurs de transcription. Les chimiokines sont des cytokines chémo-attractantes. Les facteurs de croissance (CSF) sont les cytokines qui s'occupent de l'hématopoïèse. Il y a trois grandes catégories de cytokines :

Les facteurs de promotion jouent un rôle dans la prolifération, survie, entrée en cycle des CSH et sensibilisation des cellules souches totipotentes aux autres cytokines : SCF, FLT3-L, IL-3, famille IL-6⁶

Les facteurs de régulation de l'hématopoïèse multipotentes (lignée déjà sensibilisée= étapes précoces) : ce sont principalement l'interleukine 3 (IL-3) et le facteur de croissance des cellules

Granuleuses et des macrophages : le GM-CSF jouent un rôle dans la multiplication, la différenciation et la maturation.

Les facteurs restreints (lignée déjà engagée=étapes tardives) : agissent sur les cellules souches engagées ou progénitrices et favorisent la multiplication cellulaire et la maturation des précurseurs ;

G-CSF(granulocytes), M-CSF(monocytes), EPO (érythrocyte), TPO (plaquettes), IL-5 (éosinophiles), IL-7 (LB), IL-4 et 2 (LT) Le facteur de régulation négative important à retenir est l'ostéopénie qui se lie aux CSH les empêchant ainsi de rentrer en cycle.⁷

Les vitamines et oligo-éléments : certaines vitamines, comme la vitamine B12 et l'acide folique, sont nécessaires à la synthèse de l'ADN et donc à la division cellulaire. D'autres, comme le fer, sont nécessaires à la fabrication des protéines spécifiques de lignées, comme la synthèse de l'hémoglobine.⁸

Cytokine	Cells of origin	Activity
Granulocyte–macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)	Endothelium, macrophages, T cells	Proliferation and activation of granulocyte and monocyte precursors Proliferation of multilineage progenitor cells
Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)	Monocytes, endothelium, fibroblasts	Proliferation and maturation of precursors of granulocytes
Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF)	Endothelium, monocytes, fibroblasts, endometrium	Proliferation and activation of monocyte precursors
Stem cell factor	Marrow stromal cells, endothelial cells, fibroblasts	Proliferation of early and committed progenitor cells in synergy with other cytokines
Erythropoietin	Kidney, liver	Proliferation of erythroid and megakaryocyte precursors
IL-1	Monocytes, endothelium, fibroblasts	Induces stem cells to enter cycle Induces G-CSF, GM-CSF, M-CSF, IL-3 production Release of neutrophils from marrow
IL-2	T cells	Proliferation and activation of T cells, NK cells, monocytes
IL-3	T cells	Proliferation of early and committed haemopoietic stem cells, especially megakaryocytes
IL-5	T cells	Proliferation and activation of eosinophil and basophil precursors
IL-6	Monocytes, fibroblasts, T cells	Induces stem cell proliferation, especially megakaryocyte progenitors
IL-8	Endothelium, monocytes, fibroblasts	Neutrophil activation
IL-9	Monocytes	Proliferation of erythroid and mast cell precursors Maturation of megakaryocytes
IL-11	Fibroblasts	Proliferation of monocyte progenitors and early committed progenitor cells

Figure 3: Facteurs de croissance impliqués dans l'hématopoïèse ²

2-LA LYMPHOPOÏÈSE NORMALE :

La lymphopoïèse émane de la différenciation et de l'engagement progressif des CSHs en progéniteurs intermédiaires puis en précurseurs à l'origine des Lymphocytes B, Lymphocytes T, des cellules NK (Natural killers) et des DCs (Cellules dendritiques).¹⁰ Il s'agit d'un processus multi-étape qui continue tout au long de la vie et ne se déroule pas que dans la moelle, la maturation va se parfaire dans le thymus pour les lymphocytes T, dans la moelle osseuse et le foie fœtal pour les lymphocytes B. La lymphopoïèse s'installe chez l'Homme dans le plexus lymphatique et le thymus à partir de 9 semaines de gestation. Le microenvironnement thymique

humain commence à se développer au bout de 4 semaines de gestation en 3 phases développementales : la première se déroule entre 4 et 8 semaines avec l'apparition de l'épithélium thymique. La seconde se déroule entre la 9ème et la 15ème semaine de gestation et est caractérisée par le développement des régions sous capsulaire, corticale et médullaire. La 3ème phase se déroule à partir de la 16ème semaine de gestation jusqu'à 2 ans après la naissance et est caractérisée par une maturation des LT intra-thymique robuste. Lorsque les lymphocytes ont atteint leur maturité ils sont déversés dans le sang et migrent ainsi vers les organes lymphatiques secondaires (Ganglions lymphatiques, rate, et tissu lymphoïde associé aux muqueuses).¹¹

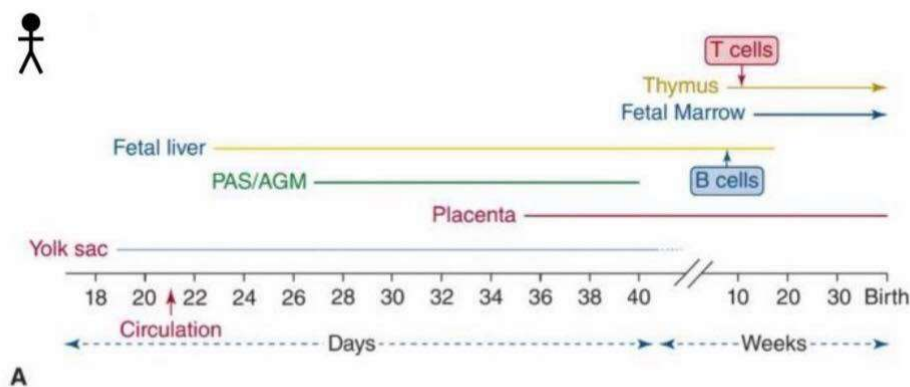


Figure 4: Calendrier d'évolution du système hémato-lymphoïde durant le développement prénatal chez l'homme¹²

2-1 La lymphopoïèse B (phase antigène indépendante) :

Correspond à la production de lymphocytes B par la moelle osseuse chez l'adulte, et le foie chez le fœtus. Les LB représentent 10 à 15 % des lymphocytes circulants. Ils sont le support de la réponse humorale et à l'origine de la production des immunoglobulines (Ig) (sous forme soluble les anticorps (Ac), ou sous forme membranaire les B Cell Receptor (BCR)) en réponse à une stimulation antigénique spécifique à partir d'un progéniteur totipotent qui se différencie en progéniteur lymphoïde T (qui va migrer dans le thymus) et en progéniteur lymphoïde B (intervention des cytokines SCF et IL-3) qui reste dans la moelle osseuse.¹³ Le premier progéniteur lymphoïde B ou B cell precursor ou BCP prolifère et se différencie en présence

d'IL-7 en 4 étapes successives, que l'on peut caractériser puisqu' il apparaît chaque fois une nouvelle molécule :

Au stade B1 (ou pro B) : Caractérisé par la présence des CD19, CD22, CD79b

Au stade B2 (ou pré B) : Apparition en plus des CD10

Au stade B3 (immature B) : On retrouve en plus C μ intra cytoplasmique

Au stade B4 (mature B) : Apparition d'une Ig M en surface.¹⁴

La Lymphopoïèse B se déclenche dans la moelle osseuse à partir des lymphocytes Pro-B. A ce stade le lymphocyte Pro-B réalise une recombinaison de ses gènes VDJ (gènes des Immunoglobulines) médiée par les recombinaisons RAG1 et RAG2 (Recombination activating gene) pour aboutir à la synthèse du récepteur B (BCR) et donc au stade lymphocyte B mature naïf possédant une IgM et une IgD de surface ; ils sont appelés naïfs car ils n'ont jamais rencontré l'Ag complémentaire de leur Ig de surface). Ces cellules vont migrer vers les organes lymphoïdes secondaires, lieu de rencontre de l'antigène.¹⁵

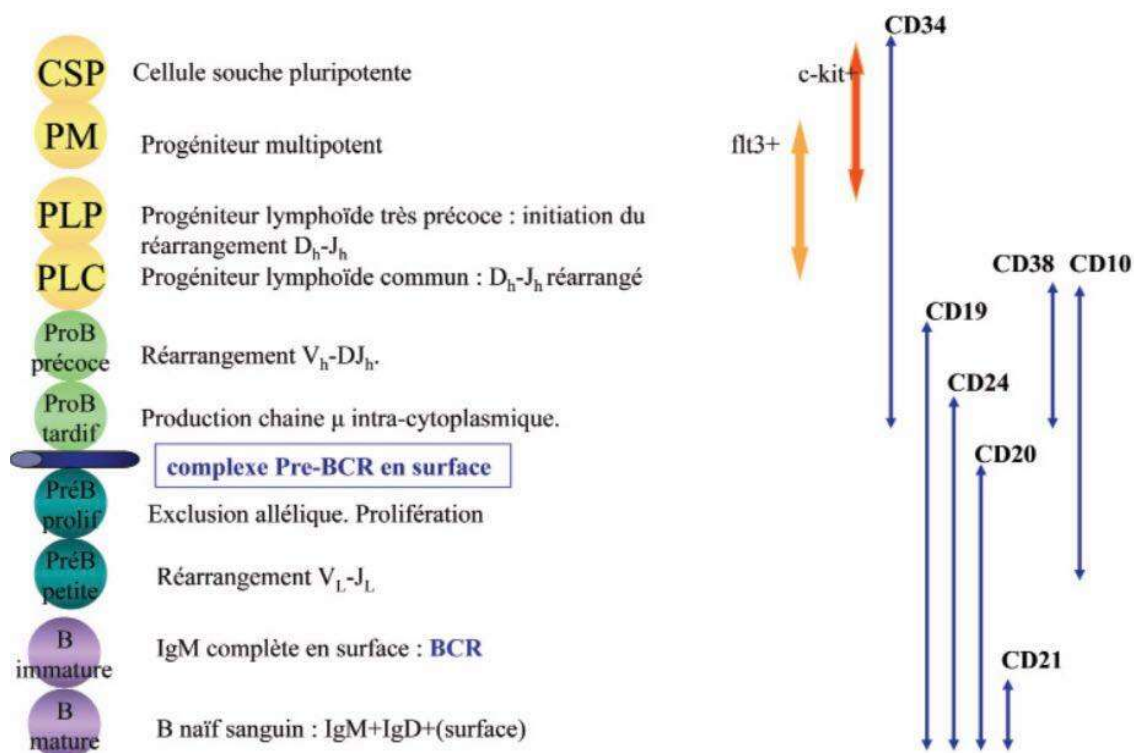


Figure 5 : Les différents stades en fonction du réarrangement des gènes et des marqueurs de différenciation.¹⁶

2-1-1 Régulation de la lymphopoïèse B : Exclusion allélique et exclusion isotypique

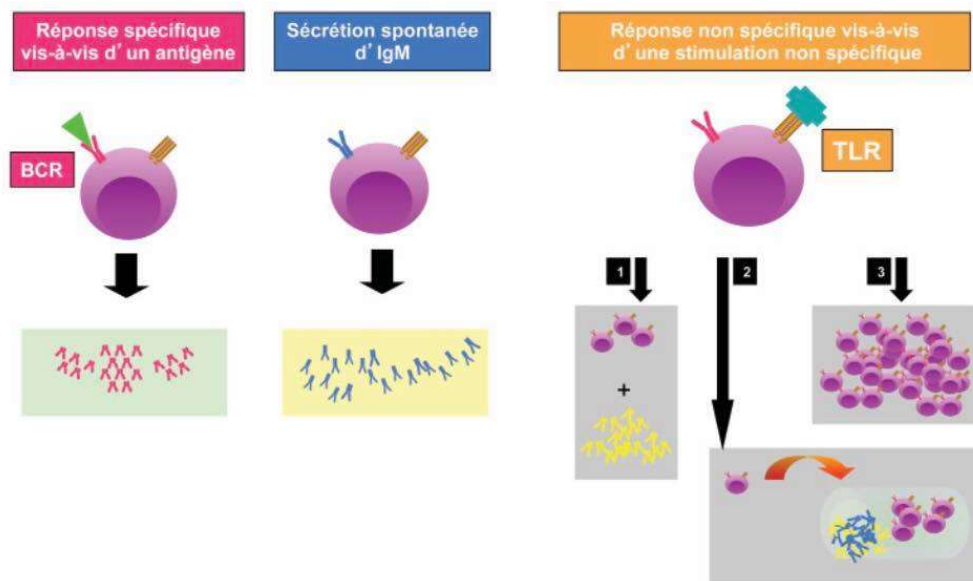
Les lymphocytes possèdent la particularité de ne synthétiser qu'un seul type d'anticorps à la fois, et ce à partir d'un seul des chromosomes de chaque paire intéressée (14, 2 ou 22). Ce phénomène est appelé exclusion allélique ou haploïdie fonctionnelle. Au cours de la différenciation du lymphocyte, une première recombinaison est tentée sur l'un des deux chromosomes pris au hasard. Si la recombinaison est réussie, c'est-à-dire si une chaîne fonctionnelle peut être synthétisée (on dit que le réarrangement est productif), tout s'arrête ; le second chromosome n'est pas recombinaison et ne pourra pas être exprimé. Si au contraire, la tentative est un échec, et ne conduit pas à la synthèse d'un produit fonctionnel (réarrangement abortif), une nouvelle recombinaison est tentée sur l'autre chromosome. Si les échecs se répètent pour tous les gènes possibles, le lymphocyte ne sécrètera jamais d'immunoglobuline. Une même cellule n'exprime jamais à la fois une chaîne kappa et une chaîne lambda (exclusion isotypique). La toute première tentative de recombinaison pour les chaînes légères s'effectue au niveau de l'un des deux gènes kappa. En cas d'échec il est fait appel au gène kappa de l'autre chromosome 2. En cas de nouvel échec il est fait appel aux gènes lambda. A leur niveau, chez l'homme, 12 tentatives seront possibles puisqu'il y a 6 gènes codant la partie constante des chaînes lambda sur chaque chromosome 22. L'exclusion allélique et l'exclusion isotypique sont contrôlées par le Pré-BcR.¹⁷

2-1-2 Régulation de l'expression et fonction du Pré-BcR :

Le pré-BcR régule les réarrangements génétiques des chaînes légères, la survie, la prolifération et la différenciation des lymphocytes immatures. Par cette voie, les cellules immatures vont être soumises à un contrôle de qualité : seules les cellules contenant un réarrangement BCR m productif pourront poursuivre leur maturation. Le rôle du BCR nécessite donc la transduction d'un signal intracellulaire via le pré-BCR. Dans les cellules B matures cette fonction de transduction du signal est assurée par les molécules CD79. Il est clairement établi que les signaux médiés par le pré-BCR passent par l'activation des molécules CD79 via la phosphorylation des motifs ITAM présents dans la région intracytoplasmique de ces molécules.¹⁸

2-2 L'immunopoièse (phase dépendante de l'antigène) :

Dans les organes lymphoïdes secondaires, le lymphocyte T présente l'antigène au lymphocyte B mature naïf (des contacts CD80 - CD28 et CD40 - CD40L des lymphocytes B et T s'effectuent : ceci permet la synthèse et la sécrétion de cytokines). Cette présentation provoque l'activation du BCR suivie par les hypermutations somatiques (processus de mutations ponctuelles aléatoires sur les lourdes et légères des Immunoglobulines du BCR) afin d'augmenter l'affinité pour l'antigène. Le lymphocyte B subit ensuite un switch des immunoglobulines (Igs) qui produit un réarrangement irréversible de l'ADN par excision des séquences d'ADN situées entre le gène J et le gène codant pour la chaîne lourde souhaitée via des enzymes AID. Ces cellules vont se remettre à proliférer pour amplifier leur nombre puis soit migrent vers la pulpe rouge de la rate, la médullaire du ganglion ou la moelle osseuse, et se transforment en plasmocytes qui produisent les anticorps, soit deviennent des lymphocytes mémoire, qui recirculent indéfiniment dans l'organisme à la recherche de leur Ag complémentaire. Un nouveau contact induit un nouveau cycle d'immunopoièse, qui produira de nouvelles cellules B encore plus spécifiques de l'Ag. Par rapport aux lymphocytes naïfs, les lymphocytes mémoire ont un BCR à forte affinité pour l'antigène, de nature IgG, A ou E. L'Induction de la réponse immune spécifique d'un antigène se passe au centre germinatif Lorsque le LB est stimulé à la fois par sa rencontre avec l'antigène et par un lymphocyte TCD4 helper de même spécificité, il peut se rendre dans un follicule. Là, il prolifère rapidement grâce à l'environnement produit par la cellule folliculaire dendritique (FDC), créant le centre clair, et repousse ainsi en périphérie du follicule, le reste du contenu cellulaire du follicule primaire, en un « manteau » de cellules B quiescentes.¹⁹



Réponse antigène-spécifique : la fonction la plus anciennement connue de sécrétion d'anticorps dirigé contre l'antigène reconnu par le BCR.

Sécrétion spontanée d'IgM : sans stimulation ni par le BCR ni par les TLR.

Réponse non-spécifique vis-à-vis d'une stimulation non spécifique par un ligand du TLR :

1. accumulation locale et production d'IgM polyréactives (naturelles); 2. migration, prolifération et production d'IgA ou IgM; 3. prolifération clonale extensive.

Figure 6: Les différentes fonctions des lymphocytes B mémoires.²⁰

3- PHYSIOPATHOLOGIE :

Au cours de chacune des étapes précédentes les cellules prolifèrent intensément et sont l'objet de multiples remaniements chromosomiques. Une anomalie génomique peut survenir : elle sera habituellement suivie de la mort de la cellule correspondante (apoptose), mais parfois l'anomalie induit un avantage de prolifération ou/et de survie, pouvant donner naissance à une cellule cancéreuse par exemple une leucémie aiguë quand elle se produit dans une cellule de la moelle osseuse (B I, B II, B III), ou un lymphome quand elle se produit dans une cellule du follicule lymphoïde. Ces anomalies peuvent émerger à différents niveaux :

- Instabilité génétique au cours de l'ontogénèse : (VDJ, Hypermutations somatiques, commutation des voies de signalisations)
- Multiplicité des voies de signalisations : (Prolifération, différenciation, Apoptose)
- Réarrangements génétiques somatiques : (Mutations, Translocations)
- Le microenvironnement autour des cellules lymphomatoses joue un rôle important et contribue à leur survie et leur prolifération via l'activation de leur BCR par la

présentation de l'antigène. Dans le lymphome folliculaire par exemple, les cellules lymphomateuses ne se multiplient in vitro qu'en présence de lymphocytes T helper ou d'une stimulation par leur CD40. In vivo, les cellules tumorales sont toujours en contact étroit avec les cellules folliculaires dendritiques et des lymphocytes T CD4 helper. Les rares cellules lymphoïdes des espaces interfolliculaires ne prolifèrent pas.²¹

Les infections virales :

- Le virus d'Epstein-Barr (EBV) : infecte environ 90 % de la population humaine. Après la primo-infection, il persiste durant la vie dans les LB mémoire. Dans certains cas, le virus les transforme et peut occasionner des lymphomes (Burkitt, maladie de Hodgkin, ou post transplantation), qui tous semblent dériver de LB du CG. Il entre dans le lymphocyte B en se fixant sur la molécule CD21 (récepteur à la fraction du Complément C3d) avec la molécule HLA de classe II comme corécepteur. L'infection des LB in vitro a pour conséquence l'immortalisation des cellules. Le virus reste latent et s'active spontanément dans un petit pourcentage de cellules. Les cellules B mémoires quiescentes sont le réservoir de virus dans le corps humain.²²
- Le virus d'Epstein-Barr n'est pas le seul agent infectieux impliqué dans la pathogenèse des lymphomes, il y'a aussi le virus de l'hépatite C, et il en existe d'autres, tel l'HHV-8. Ces organismes agissent diversement par des mécanismes bien particuliers, comparable à EBV, et/ou par l'effet de stimulation antigénique chronique. Les lymphomes non hodgkiniens sont un des cancers les plus fréquemment associés à l'infection par le VIH.²³

Les lymphomes les plus fréquents dérivent des cellules du centre germinatif ou « post-CG » car l'hypermutation somatique et la commutation isotypique des immunoglobulines par les AID entraînent des modifications de l'ADN qui peuvent souvent s'avérer pathologiques et qui peuvent donner naissance à des cellules lymphomateuses. Par exemple, le gène BCL6 est souvent muté lors d'une hypermutation somatique aberrante. Les leucémies lymphoblastiques et les lymphomes lymphoblastiques sont des « néoplasies » (OMS) issus de précurseurs B infiltrant la moelle osseuse, le sang, et parfois avec des localisations nodulaires ou extra-nodale.²⁴

Type de SLP B en fonction du stade de différenciation

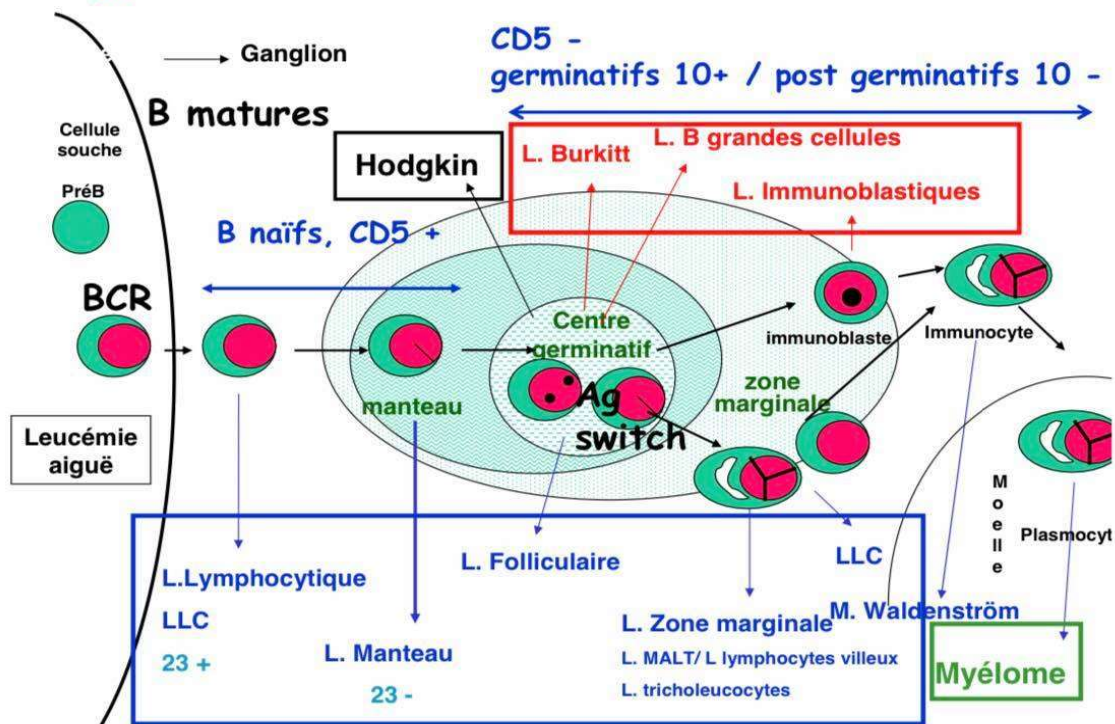


Figure 7: Correspondance entre les différents stades de différenciation des cellules lymphoïdes B humaines et leur contrepartie lymphomateuse

4-EPIDEMIOLOGIE :

La classification OMS 2016 des SLPC distingue :

- les SLPC-B (90%),
- les SLPC-T et NK (10%).

Ils représentent :

4% des tumeurs malignes

5% de la mortalité liée aux cancers

Augmentation de leur incidence de 80% en 25 ans

Les lymphomes malins non hodgkiniens sont les plus fréquentes des hémopathies malignes.

Leur incidence a doublé en 20 ans. Il existe une prédominance masculine (homme 60%, femme 40%) variable selon les formes de la maladie. Ils sont plus fréquents chez le sujet âgé avec une

médiane d'âge de 60 ans. De plus, ces pathologies sont parmi les affections cancéreuses les plus fréquentes de l'enfant, l'adolescent et l'adulte jeune.²⁵

DANS LE MONDE

L'incidence des lymphomes non hodgkiniens (LNH) est estimée, dans les pays occidentaux, à 13 nouveaux cas par an pour 100 000 habitants. Le type de lymphomes est variable selon les pays. L'incidence des lymphomes B est plus importante en Europe et aux États-Unis et représente 80 % des cas diagnostiqués, les lymphomes T, ne représentant que moins de 20 % des cas. L'incidence des lymphomes T est beaucoup plus élevée, 50 à 70 % des cas, en Asie et surtout au Japon.

En France

C'est l'une des tumeurs dont la fréquence augmente le plus, son incidence ayant doublé en vingt ans. De ce fait, les lymphomes sont, maintenant, au sixième rang des localisations de cancers. Les causes de cette augmentation ne sont pas connues avec précision mais des facteurs de l'environnement sont suspectés, comme les dioxines, les pesticides. Ils représentent 3 % des cancers, ce qui correspond, en 2018 à 15 500 nouveaux cas. L'incidence annuelle, pour 100 000 est maintenant de 12 cas chez les femmes et de 16 cas chez les hommes. L'incidence augmente après l'âge de 65 ans, mais ces maladies peuvent s'observer à tout âge, y compris chez l'enfant et l'adolescent. Chez l'adulte, il existe une prédominance masculine variable selon le type de lymphome. L'âge médian lors du diagnostic est de 64 ans chez l'homme et de 70 ans chez la femme.²⁶

Au Maroc : Exemple d'une étude descriptive au sud du Maroc

Au Maroc, 1500 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année, avec un nombre total de 7500 patients atteints de lymphomes. Dans 90 % des cas, l'étiologie du lymphome reste inconnue, cependant, certains facteurs de risque ont été retenus tels que l'immunodépression et les pathologies auto-immunes. D'autres facteurs restent incriminés dans l'augmentation du risque de lymphomes tels que l'exposition aux radiations ionisantes, aux dioxines et aux pesticides. La Région de Souss-Massa est une région agricole par excellence située au Sud du Maroc et draine tous les malades du Sud Marocain. Cette étude avait pour objectif de décrire le profil épidémiologique des lymphomes dans la Région de Souss-Massa Méthodes Une étude transversale, rétrospective à visée descriptive portant sur tous les dossiers des malades atteints

de lymphome et suivis entre le 1er janvier 2015 et le 31 décembre 2019 au Centre régional d'oncologie d'Agadir (CROA).

Résultats Sur cinq ans, 146 patients ont été colligés, l'âge moyen était de 50 ans 20,47. Le sexe ratio H/F = 1,03. Un tiers des patients provenaient de la province de Taroudant et 93,2 % des patients étaient sous Régime d'Assistance Médicale pour Démunis (RAMED). Tous les patients avaient un état général conservé à l'admission et ils avaient des adénopathies à l'examen physique. Sur le plan histologique, 29 patients (19,9 %) avaient un LH et 117 patients (80,1 %) avaient un LNH dont 94 patients (64,4 %) étaient de phénotype B et 23 patients (15,8 %) de phénotype T. Les stades avancés (III- IV) étaient notés chez 109 patients (74,6 %). La localisation ganglionnaire était notée chez 103 patients (70,5 %)²⁷



CHAPITRE 2 : CYTOMETRIE EN FLUX

1-GENERALITES :

La cytométrie en flux (CMF) a été mise au point dans les années 60 par les chercheurs de Los Alamos et de Stanford aux États-Unis. Elle ne s'est cependant réellement développée que depuis les années 80 avec l'apparition des anticorps monoclonaux et certaines applications comme le phénotypage des hémopathies malignes et le suivi des populations lymphocytaires dans les pathologies associées au VIH. Il s'agit de l'étude d'une suspension monocellulaire, colorée par un fluorochrome, circulant dans une veine liquide et passant devant un rayon lumineux (source laser le plus souvent) grâce à un système optique étudiant la lumière transmise et la lumière diffractée et ou réémise par un fluorochrome (immunofluorescence). Cette technique permet une analyse multiparamétrique unicellulaire : elle mesure des paramètres morphologiques (taille, densité, fluorescence...) Et des paramètres d'expression à l'aide d'AC monoclonaux sur plusieurs milliers de cellules par seconde. Ces propriétés font de la cytométrie en flux une technique sensible et objective particulièrement adaptée à l'analyse des populations cellulaires complexes, des événements rares et aux études quantitatives. Elle est utilisée fréquemment en hématologie. Ces applications, dont la plus simple et la plus ancienne est la numération de formule sanguine, concernent aussi bien l'analyse des caractéristiques fonctionnelles ou cytomorphologiques de la cellule normale que la détection, la classification, l'évaluation des facteurs pronostiques et l'élimination thérapeutique des cellules tumorales. Elle rend possible une évaluation rapide et fiable des sous-populations cellulaires dans des prélèvements sanguins et médullaires ou dans des liquides de ponction, même lorsqu'elles sont faiblement représentées, constituant ainsi une étape essentielle dans le diagnostic et le suivi de la plupart des hémopathies malignes en particulier des syndromes lymphoprolifératifs B. Ces dernières années, la CMF a connu une véritable révolution grâce aux avancées technologiques et à l'augmentation exponentielle des Ac monoclonaux, permettant l'accès à de nombreux antigènes. Aujourd'hui les instruments disponibles sont plus rapides, robustes, reproductibles, donnant accès aux événements rares, notamment la maladie résiduelle (MRD) en hématologie ; nous bénéficions également des avancées dans le domaine de la chimie des fluorochromes, de l'amélioration de la technologie laser et des progrès informatiques permettant le traitement d'un large volume et leur intégration multiparamétrique.²⁸

Dans les années 1990 à 2000, nous disposions de la CMF 1/2 ou 3/4 couleurs ; actuellement, 8/10 couleurs évoluant vers 12/15 couleurs en pratique clinique, ce qui permet d'augmenter considérablement la résolution de l'analyse des différentes populations cellulaires étudiées.²⁹

2-PRINCIPE GENERAL DE LA CYTOMETRIE EN FLUX

La Cytométrie en flux est une technique qui permet de mesurer, sur une suspension (sang, liquide de ponction...) de particules (cellules, bactéries, parasites, billes...). Les caractéristiques de chaque particule individuellement et simultanément plusieurs paramètres sur chaque particule ou cellule au sein d'une population hétérogène. L'interaction de ces éléments avec la lumière émise par une ou plusieurs sources lumineuses (lasers en général) permet de caractériser les cellules selon différents critères tels que la taille ou la granularité, détectés grâce à la diffusion de la lumière, ou l'expression de molécules de surface (souvent nommées CD pour cluster of differentiation) généralement révélées par un composé fluorescent couplé à un anticorps monoclonal dirigé contre le CD d'intérêt. Les cellules en suspension passent une à une devant un ou plusieurs faisceau(x) laser, la lumière du laser va exciter les fluorochromes préalablement couplés à des anticorps monoclonaux capables de reconnaître et fixer certaines protéines (CD). Un système de filtre optique et de photomultiplicateur va permettre de collecter la lumière propre à chaque fluorochrome et de la quantifier.³⁰ Il sera alors possible d'évaluer si une molécule est présente à la surface de telle ou telle cellule et également de donner l'intensité de son expression. En cas d'absence de la molécule, aucun anticorps monoclonal ne se fixe et il n'y a donc pas de signal fluorescent correspondant. Les détecteurs captent des signaux émis par chaque cellule, tels que :

La lumière diffusée dans l'axe de la source lumineuse (Forward Scatter, FSC) qui renseigne sur la taille des particules

La lumière diffusée à 90 degrés (Side Scatter – SSC) qui renseigne sur la forme, la structure interne et la granularité des particules.³¹

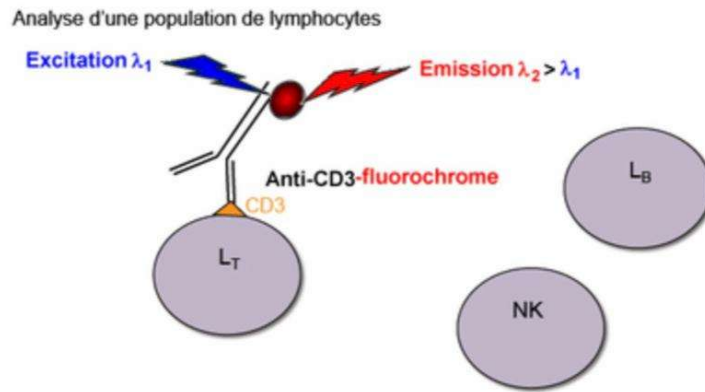


Figure 8: Le fluorochrome anti CD3 reconnaît et se fixe sur la CD3 molécule de surface du lymphocyte T, suite à son excitation il émet une fluorescence

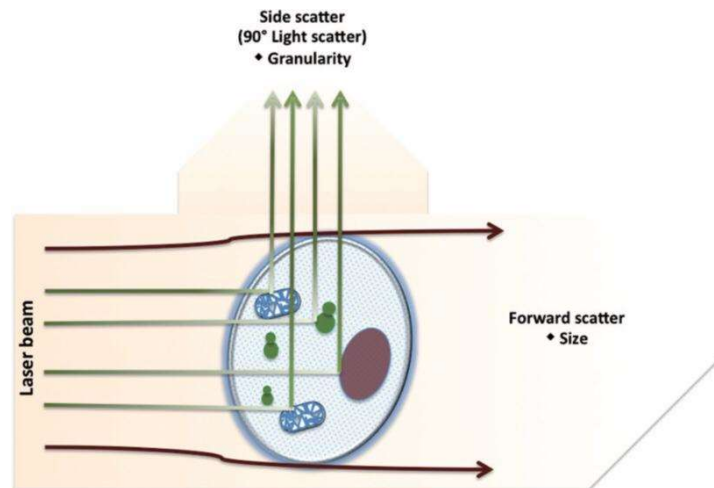


Figure 9: Diffusion de la lumière La FSC est proportionnelle à la taille alors que la SSC est proportionnelle à la granularité et la complexité interne ³²

3- DESCRIPTION DE L'APPAREIL :

Un cymomètre de flux comporte plusieurs systèmes :

- un système fluide qui introduit, canalise les cellules et les amène au niveau du laser. Les cellules en suspension sont introduites dans une veine liquide sous pression (liquide de gaine) qui aura pour effet d'aligner et espacer les cellules en vue de l'analyse ; Ainsi Le système fluide comprend deux composants ; gaine fluide et lignes sous pression. Le fluide de gaine est un diluant (généralement une solution saline tamponnée au phosphate (PBS). La pression

d'échantillon est toujours supérieure à la pression du fluide de la gaine, ce qui fait que les cellules s'alignent en un seul fichier à travers le faisceau laser. Par conséquent, cet événement permet un éclairage uniforme d'une cellule ; appelé focalisation hydrodynamique. Le taux d'injection des cellules dans le faisceau laser peut être manipulé par l'utilisateur du cymomètre en flux en fonction du but de l'analyse. Par exemple, les débits élevés sont courants pour les mesures qualitatives telles que immunophénotypage, alors que débits lents sont appropriés pour les applications nécessitant une résolution plus élevée comme l'analyse du contenu ADN. La concentration cellulaire de l'échantillon doit être ajustée à la vitesse d'analyse de l'appareil pour conserver le même diamètre de jet dans le liquide de gaine et ainsi garder le centrage de la cellule dans le jet. Une concentration de 10^6 cellules par ml est adaptée pour une vitesse de 1000 à 2000 cellules par seconde.³³

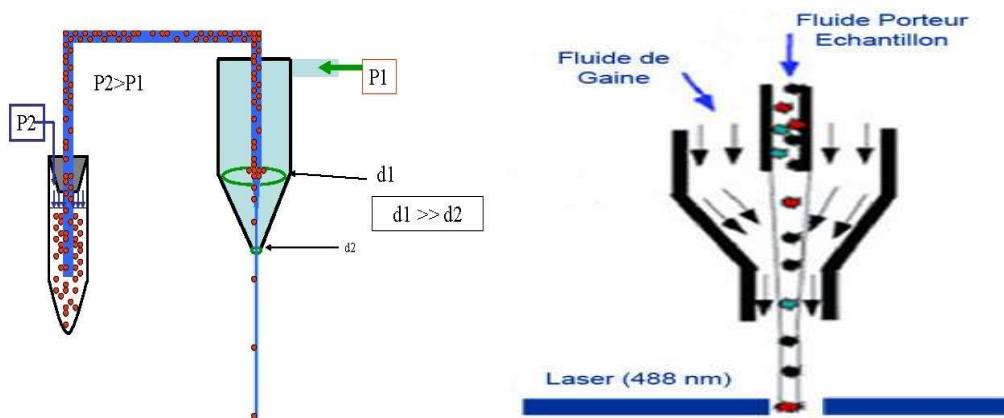


Figure 10: Représentation schématique du système de focalisation hydrodynamique qui permet de séparer les objets à étudier

- un système optique qui se compose de lasers, de lentilles et de filtres pour exciter, détecter et amplifier les différents signaux émis (miroirs dichroïques, photomultiplicateurs) ; Les lentilles sont utilisées pour façonner et concentrer le faisceau laser. Pendant ce temps, le laser produit de la lumière en dynamisant des électrons vers des orbitales à haute énergie à haute tension électrique. Des photons de lumière sont produits lorsque les électrons énergisés retombent dans leurs orbitales d'énergie inférieure. La lumière est déviée sur les bords de la cellule après que le laser frappe les cellules, également appelée lumière diffusion. Il existe une variété de configurations laser dans les cymomètres en flux basés sur le type de fluorochromes excités. Le laser argon (488 nm) est utilisé pour exciter de nombreux colorants synthétiques tels que

l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) et naturels y compris les algues et les phytoplanctons, résultant en l'émission de lumière à une longueur d'onde plus élevée. Les lasers à ions d'argon sont maintenant remplacés par des diodes laser nécessitant des contraintes d'installation moindres. La collection optique consiste en une collection de la lentille pour collecter la lumière émise par l'interaction particule-faisceau laser et un système de miroirs optiques et de filtres pour séparer puis diriger les longueurs d'onde spécifiées de la lumière collectée vers les détecteurs optiques appropriés.

- un système électronique pour convertir les signaux optiques (photons) en des signaux électroniques (volts). Les signaux sont ainsi récoltés par des photomultiplicateurs, afin d'être amplifiés, numérisés et stockés dans un ordinateur. Les signaux lumineux générés quand les particules traversent le faisceau de laser dans un flux de fluide sont convertis en tensions par photo-détecteurs. Deux types de détecteurs, les photodiodes (PD) et les tubes photomultiplicateurs (PMT), peuvent être préférés sur la base de leur sensibilité. Les photocathodes de PMT ont la plus grande sensibilité par rapport aux PD bien qu'ils soient connus pour convertir la lumière en photoélectrons d'une manière plus efficace. Par conséquent, les PD détectent les signaux lumineux plus forts générés par FSC, tandis que les PMT sont couramment utilisés pour détecter les signaux générés par SSC et fluorescence. Les signaux lumineux captés par PMT ou le PD sont convertis en un nombre proportionnel d'électrons pour créer un courant électrique. Le courant électrique se déplace vers l'amplificateur et est converti en une impulsion de tension. La quantité maximale de dispersion ou la fluorescence est obtenue lorsque la particule est au centre du rayon. Quand la particule quitte le faisceau, l'impulsion revient à la ligne de base

Après cela, ce courant électrique est amplifié par deux types d'amplificateurs, qui sont linéaires et logarithmique. Le signal analogique obtenu doit être converti en signal numérique par un convertisseur analogique-numérique pour traitement informatique. Ensuite, les signaux deviennent des données numériques qui peuvent être affichés sous forme de tracés ou d'histogrammes.

- un système informatique pour visualiser ces signaux

Principe de fonctionnement d'un analyseur-trieur

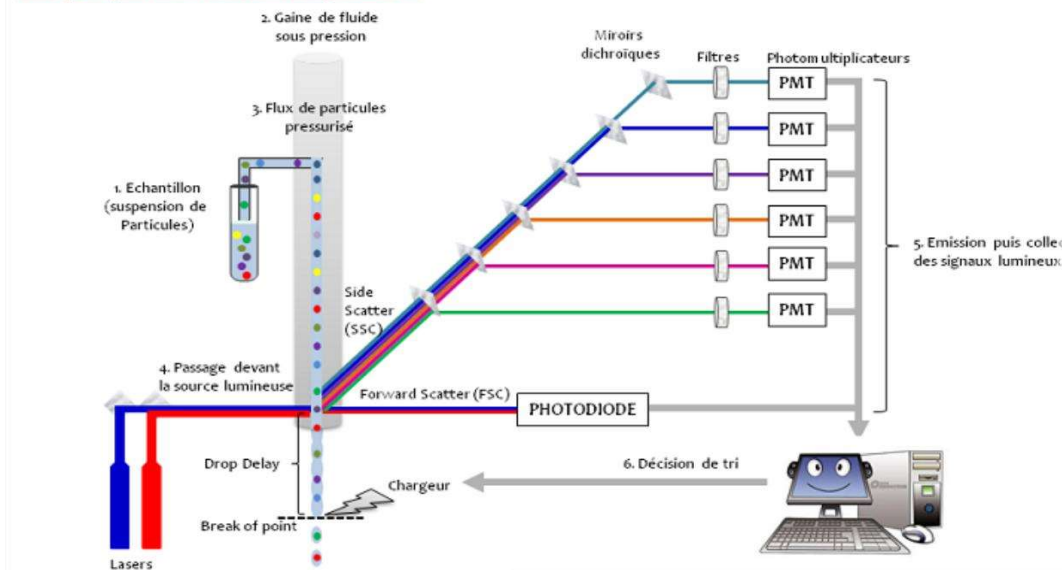


Figure 11: Description d'un cymomètre en flux

4- FLUORESCENCE :

La fluorescence est une émission de lumière résultant de l'excitation d'une molécule. Cette molécule absorbe l'énergie lors de son excitation à une longueur d'onde caractéristique puis émet cette énergie sous forme de lumière presque instantanément à une longueur d'onde plus grande. Les principales molécules fluorescentes sont composées de noyaux aromatiques. Les spectres d'absorption et d'émission sont propres à chaque fluorochrome, l'excitation est générée par les lasers des cymomètres et les fluorescences plus ou moins brillantes sont captées par les détecteurs spécifiques. Pour optimiser le marquage des différents clusters de différenciation, on privilégie les fluorochromes de forte brillance pour des marqueurs peu représentés sur les cellules et inversement.

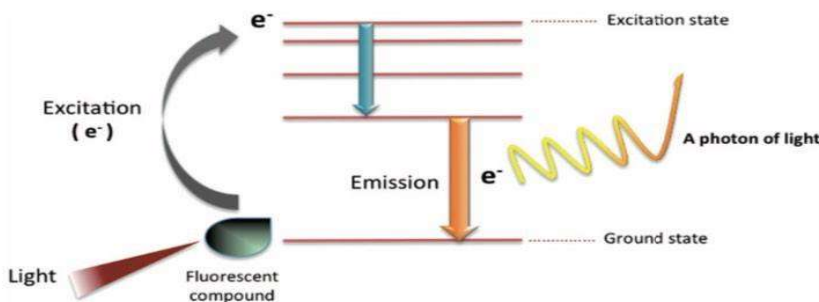


Figure 12 : Génération de fluorescence.

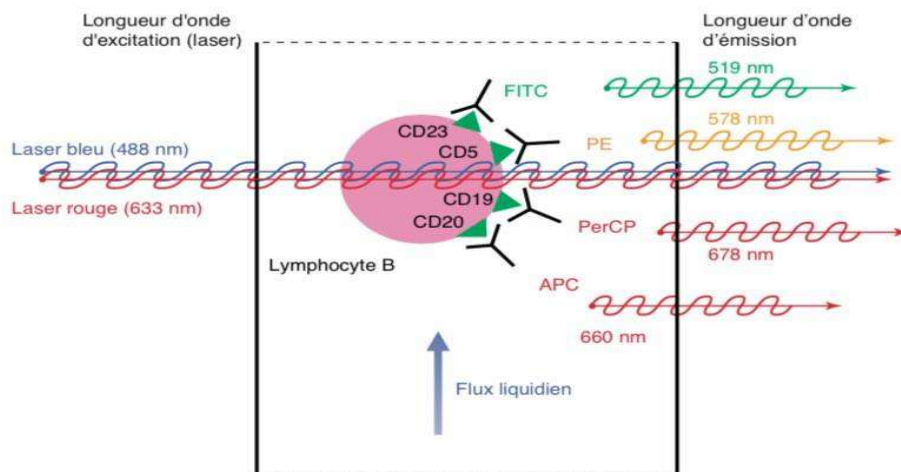


Figure 13: Principe de la cytométrie de flux.

Les fluorochromes, fixés sur les anticorps monoclonaux, sont capables d'absorber l'énergie du laser puis de la libérer par émission de photons de longueur d'onde supérieure (fluorescence), ce qui permet de quantifier les antigènes à la surface ou dans le cytoplasme d'une cellule. Dans cet exemple est représenté un lymphocyte B exprimant les molécules CD19, CD20, CD5 et CD23 (adapté d'après Becton Dickinson®). FITC : isothiocyanate de fluorescéine ; PE : R-phycoérythrine ; APC : allophycocyanine ; PerCP : peridinine chlorophylle-protéine.³⁴

4-1 Fluorochromes :

Les fluorochromes sont en effet capables d'absorber l'énergie lumineuse provenant du laser puis de libérer cette énergie, appelée fluorescence, par émission de photons de longueur d'onde supérieure. Pour le diagnostic des hémopathies malignes, la plupart des laboratoires d'hématologie utilisent actuellement des appareils à 4 ou 6 couleurs. À côté de ces analyseurs utilisés en routine, il existe des cymomètres trieurs permettant de séparer des populations cellulaires et des cymomètres pouvant analyser jusqu'à 17 paramètres de fluorescence. Les caractéristiques importantes d'un fluorochrome comprennent un spectre d'absorption auquel un composé fluorescent peut être excité et une gamme de longueurs d'onde émises appelée son spectre d'émission. La longueur d'onde d'émission de tout fluorochrome sera toujours plus longue que sa longueur d'onde d'excitation. La différence entre les maxima dans les longueurs

d'onde d'absorption et d'émission est connue sous le nom de décalage de Stoke qui détermine la qualité d'un fluorochrome. Plus le décalage Stoke est élevé, plus grande est la séparation entre l'excitant et la lumière émise. Puisque la couleur de la lumière excitante et émettrice est différente, elles peuvent être séparées l'une de l'autre à l'aide de filtres optiques. Les photons totaux de lumière absorbés par le fluorochrome sont liés à la longueur d'onde d'excitation. Les fluorochromes utilisés en cytométrie en flux sont classés en plusieurs groupes dont les fluorochromes utilisés pour marquer les protéines de manière covalente, et fluorochromes pour acides nucléiques. Afin de marquer les protéines de manière covalente, la sonde est couramment sélectionnée comme anticorps. Cependant, d'autres protéines comme une lectine, une hormone, l'avidine ou la streptavidine, ou encore L'ADNc peut être marqué à l'aide de divers fluorochromes. Les fluorochromes les plus largement utilisés pour le marquage des anticorps comprennent le FITC, la phycoérythrine (PE) et l'allophycocyanine (APC). La sélection du fluorochrome le plus adapté est un problème important et dépend du laser à utiliser. Si par exemple un cymomètre en flux comprenant un laser à ion d'argon va être utilisé, le premier choix sera FITC, car il y a nombreux anticorps marqués au FITC disponibles. PE est le deuxième choix de couleur pour une raison similaire.³⁵

*Tableau 1: Caractéristiques des fluorochromes les plus utilisés.*³⁶

Fluorochrome	Laser (nm)	Émission maximale (nm)
Alexa Fluor [®] 405	360, 405, 407	421
Pacific Blue [®]	360, 405, 407	455
AmCyan	405, 407	491
Alexa Fluor [®] 488	488	519
FITC	488	519
PE	488, 532	578
PE-Texas Red [®] (ECD [®])	488, 532	615
Texas Red [®]	595	615
APC	595, 633, 635, 647	660
Alexa Fluor [®] 647	595, 633, 635, 647	668
PE-Cy5	488, 532	667
PerCP	488, 532	678
PerCP-Cy5.5	488, 532	695
Alexa Fluor [®] 700	633, 635	719
PE- Cy7	488, 532	785
APC-Cy7	595, 633, 635, 647	785

FITC : isothiocyanate de fluorescéine ; PE : R-phycoérythrine ; APC : allophycocyanine ; PE-Cy5 : PE-cyanine 5 ; PerCP : peridinine chlorophylle protéine ; PerCP-Cy5.5 : PerCP- cyanine 5.5 ; PE-Cy7 : PE-cyanine 7 ; APC-Cy7 : APC-cyanine 7

4-2 Compensation de fluorescence :

Chaque fluorochrome a un large spectre d'émission résultant en un certain chevauchement entre les fluorochromes quand plusieurs sont utilisés simultanément. Cette situation est appelée un chevauchement spectral. Les spectres d'émission pour FITC et PE se chevauchent aux mêmes longueurs d'onde auxquelles une partie de la lumière émise par la fluorescéine passera à travers le filtre utilisé pour le PE. Ce chevauchement spectral est corrigé par la soustraction d'une fraction du signal FITC du signal PE ou vice versa. Ce processus est appelé une compensation de couleur, qui permet le calcul de combien d'interférences (en pourcentage) un fluorochrome aura avec un détecteur qui n'a pas été attribué spécifiquement pour le mesurer. Afin de déterminer la compensation à appliquer à l'ensemble de données, certaines lectures de contrôle doivent être effectuées en premier. L'un des fluorochromes doit être lu seul, puis le pourcentage de son émission totale détectable dans le canal spécifique pour le deuxième fluorochrome est déterminé. Cette procédure doit être répétée pour un deuxième fluorochrome également.³⁷

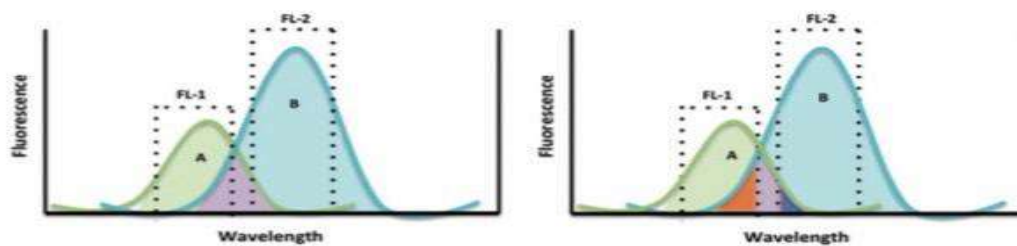


Figure 14: Explication de la compensation de fluorescence en utilisant deux fluorochromes imaginaires A et B.

A est mesuré dans le détecteur FL- 1 tandis que B est dans le détecteur FL-2. La partie orange indique la proportion de B qui se chevauche dans le détecteur FL-1. La partie bleue indique la proportion de A qui entre dans le détecteur FL-2.

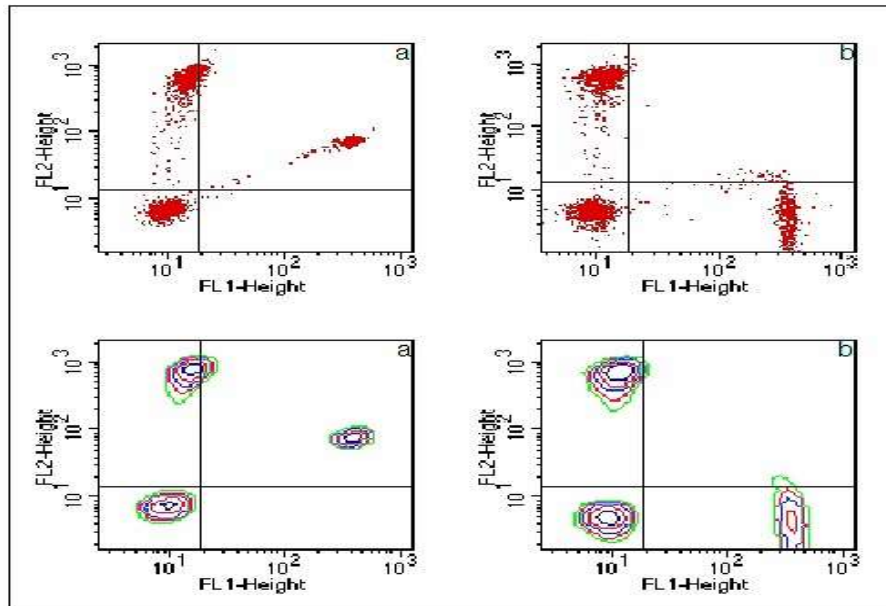


Figure 15: Effet de la compensation de fluorescence

4-3 Immunofluorescence :

L'immunofluorescence, comme tous les dosages immunologiques, tire parti de la capacité des anticorps à se lier avec une spécificité élevée à une molécule cible spécifique ; mais elle diffère des autres techniques immunohistochimiques en ce qu'ici le marqueur attaché à l'anticorps est une molécule fluorescente telle que, par exemple, l'isothiocyanate de fluorescéine. L'anticorps marqué est mis à réagir contre une préparation biologique et l'échantillon ainsi traité est exposé à une source lumineuse à ondes courtes (ultraviolette ou bleue) sélectionnée au moyen d'un monochromateur. Cette lumière à ondes courtes génère un phénomène de fluorescence dans la molécule marqueur qui à son tour émet de la lumière à une longueur d'onde plus longue (verte, jaune ou orange).

Dans la coloration par immunofluorescence directe, les cellules sont incubées avec un anticorps directement conjugué à un fluorochrome (par exemple FITC). Cela présente l'avantage de ne nécessiter qu'une seule étape d'incubation d'anticorps et élimine la possibilité d'une liaison non spécifique à partir d'un anticorps secondaire. Cette approche est particulièrement utile pour la coloration intracellulaire, où de grands complexes anticorps-fluorochrome, y compris des

anticorps secondaires, peuvent être piégés, provoquant une liaison non spécifique, ou ne parviennent pas à pénétrer dans la cellule, empêchant la détection primaire des anticorps.

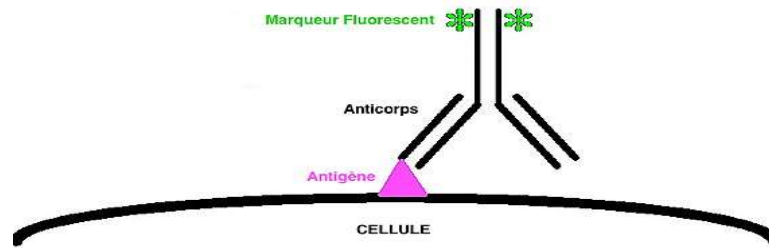


Figure 16: L'immunofluorescence primaire ou directe.

Dans la coloration indirecte, l'anticorps primaire n'est pas marqué au fluorochrome, mais est détecté par un anticorps secondaire marqué au fluorochrome. Ce deuxième réactif peut être un anticorps ayant une spécificité pour le premier anticorps. Le système avidine-biotine peut être utilisé par exemple un anticorps est conjugué à la biotine et détecté avec de l'avidine marquée au fluorochrome. Cette technique est légèrement plus complexe que l'IFD, nécessite plus d'étapes et est plus susceptible de subir des interférences, mais en retour, elle est beaucoup plus flexible qu'une technique directe et parce qu'il est possible pour un anticorps primaire d'unir plus d'un anticorps secondaire, implique un effet d'amplification qui augmente également la sensibilité de la technique. Cette technique est possible, car les anticorps se composent de deux parties, une région variable (qui est celle qui reconnaît l'antigène) et une région constante (qui est celle reconnue par l'anticorps secondaire). La large gamme d'anticorps conjugués désormais disponibles élargit le choix des protéines cibles pour le chercheur.³⁸

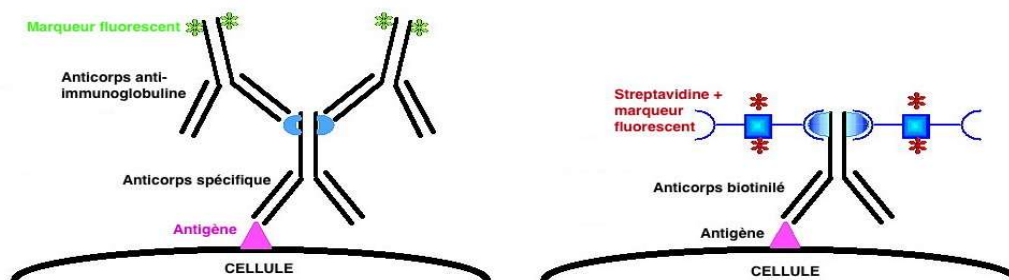


Figure 17: L'immunofluorescence secondaire ou indirecte.

5- PREPARATION DE L'ECHANTILLON :

Les échantillons analysables en CMF doivent être composés de cellules en suspension. Le sang et la moelle osseuse sont donc des prélèvements de choix pour l'analyse par CMF. L'utilisation de tubes avec anticoagulant (EDTA ou héparinate de lithium) est à privilégier. L'analyse doit être réalisée dans les 24 heures avec une conservation à température ambiante afin d'éviter la dégradation des cellules, ainsi que pour obtenir des résultats optimaux. La lyse des globules rouges (éléments mille fois plus représentés que les leucocytes) permet de les éliminer et de limiter les interférences pendant l'analyse. La centrifugation du prélèvement sur un gradient de densité enrichit la population d'intérêt en isolant les cellules mononuclées. Le lavage des échantillons dans un tampon isotonique est recommandé pour éliminer les immunoglobulines naturelles circulantes qui interfèrent avec l'étude des chaînes légères Kappa/Lambda ou des chaînes lourdes des immunoglobulines. L'étude des cellules avec un taux élevé de récepteurs aux fragments Fc (ex : lymphocytes B) est difficile, la saturation des récepteurs par du sérum (animal ou humain) peut éviter un marquage non spécifique. Le marquage des cellules est réalisé à l'aide d'anticorps le plus souvent monoclonaux couplés à un fluorochrome, à concentration saturante après une incubation d'environ 15 à 30 minutes dans l'obscurité, suivi de lavages successifs pour éliminer l'excès d'anticorps. Des perméabilisants de membranes sont utilisés pour permettre le marquage d'antigènes intracellulaires.³⁹

6-TRI ELECTROSTATIQUE DES CELLULES (CELL SORTING) :

Le tri électrostatique des cellules est responsable de la capture et la séparation des cellules avec des caractéristiques prédéfinies. Une fois les cellules d'intérêt sont collectées, ils peuvent être utilisés pour une analyse plus approfondie telles que les études microscopiques, biochimiques et fonctionnelles. Le principe général des trieurs cellulaires en cytométrie en flux à est basé sur la déviation électrostatique des gouttelettes chargées. Dans cette méthode, les cellules sont injectées à travers une buse pour former un flux de gouttelettes régulières en appliquant une vibration à la buse. Ensuite, ces gouttelettes passent à travers un ou plusieurs faisceaux laser et sont chargés par une électrode de charge en même temps. Les gouttelettes peuvent être déviées du reste sur la base de leurs charges données. Les gouttelettes chargées positivement sont déviées vers une plaque de platine de charge négative, les gouttelettes chargées négativement sont déviées vers la plaque de platine chargée positivement et les gouttelettes non chargées sont

collectées dans un conteneur à déchets. FACS (fluorescence activated cell sorting en anglais tri cellulaire induit par fluorescence) est un type spécialisé de cytométrie en flux fournissant un procédé de tri d'un mélange hétérogène de cellules marquées de fluorescents dans deux ou plusieurs conteneurs, une cellule à la fois, basé sur les caractéristiques fluorescentes spécifiques de chaque cellule. Dans ce cas, l'opérateur sélectionne la cellule fluorescente d'intérêt utilisant un ordinateur pendant leur passage à travers le faisceau laser. Les cellules marquées dans la goutte seront chargées, ce qui sera utilisé pour séparer les cellules en différents récipients de collecte.⁴⁰

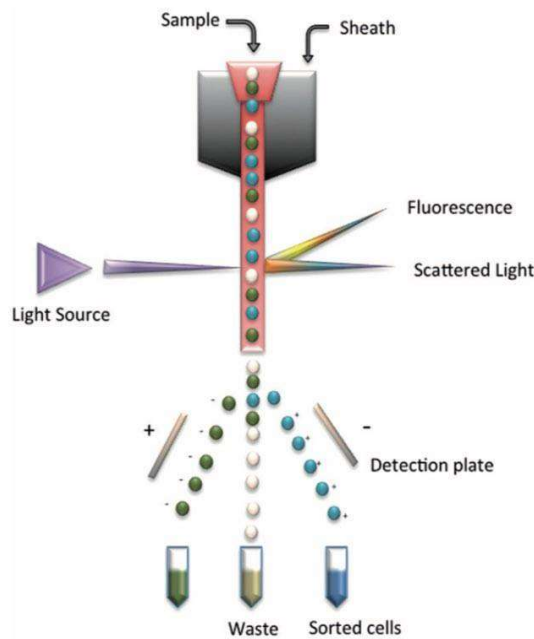


Figure 18: Tri des cellules par déviation des gouttelettes

7- ANALYSE DE DATA :

En plus des données de fluorescence, des informations optiques connues sous le nom de diffusion vers l'avant (FSC) et diffusion latérale (SSC) sont obtenues en fonction de l'angle de la lumière émise par la cellule analysée. Classiquement, le FSC est la lumière diffusée sous un petit angle et détecté par un capteur sur le côté opposé du 488 nm/ source de laser bleu. FSC fournit essentiellement des informations en corrélation avec la taille de la cellule. La lumière qui diffuse de la cellule à un angle de 90°, appelé "diffusion latérale", est sélectionnée par une

série de capteurs adjacents et fournit des informations sur la granularité de la cellule. Cela pourrait être utile, pour exemple, en essayant de distinguer les lymphocytes et les granulocytes. Le nuage de points est l'un des moyens basiques de visualisation des données de cytométrie en flux, les informations sont tracées avec l'axe X comme intensité FSC et l'axe Y comme intensité SSC. Les axes des tracés sont étiquetés avec le nom du fluorochrome et le marqueur de surface (Par exemple, FITC-CD3 pour le CD3 marqué à l'isothiocyanate de fluorescéine). Les cellules positives pour les deux marqueurs seront situées dans le quadrant supérieur droit, alors que les cellules négatives pour les deux seront situées dans le quadrant inférieur gauche. Pour la dispersion les tracés de points les axes sont linéaires, alors que dans les tracés de fluorescence, en raison de la large gamme de signaux de fluorescence, ils sont généralement affichés de manière logarithmique.⁴¹

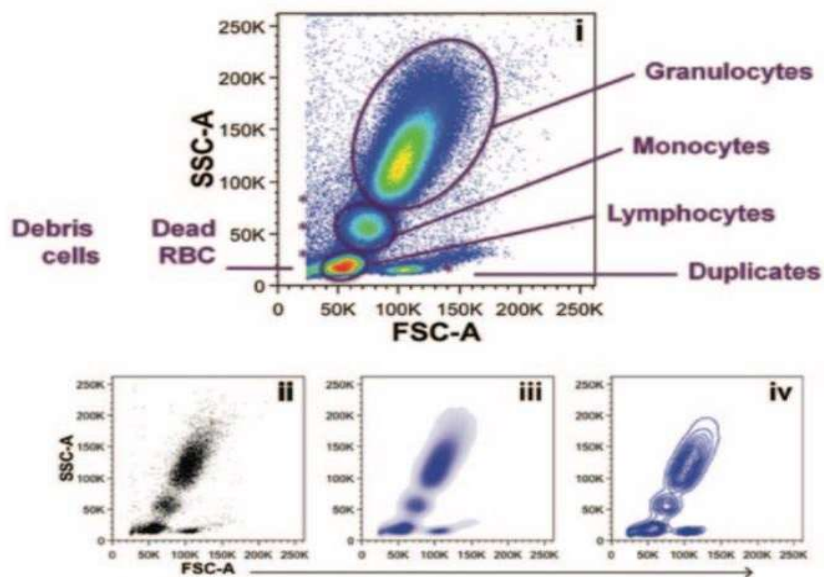


Figure 19: Diagrammes de dispersion affchant le FSC (axe X) et le SSC (axe Y) du sang périphérique total lysé.⁴²

7-1 Gating :

Un sous ensemble de données peut être défini par des méthodes de « gating » spécifique. Une porte est une limite numérique ou graphique permettant de définir les caractéristiques des particules pour une analyse plus approfondie. Par exemple, dans un échantillon de sang contenant une population mixte de cellules, on peut restreindre l'analyse aux lymphocytes

seuls. Basé sur la taille de cellule ou FSC, une porte peut être définie sur le tracé FSC versus SSC pour l'analyse des lymphocytes. L'affichage résultant refléterait les propriétés de fluorescence des lymphocytes seuls.⁴³

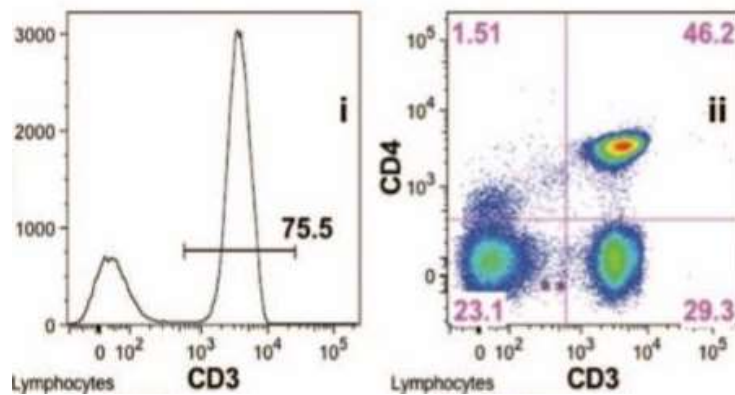


Figure 20: Stratégie de gating pour définir les sous-ensembles de lymphocytes.

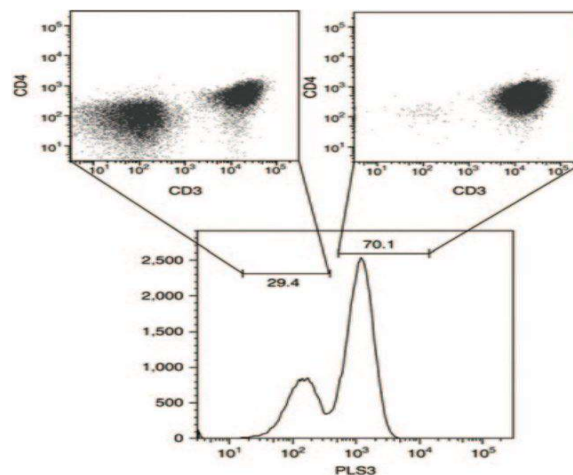


Figure 21: Un exemple de staging dans lequel l'analyse de flux de couleur unique est montrée avec l'axe X étiqueté avec le nom du marqueur cellulaire fluorescent, PLS3, sur une échelle logarithmique et le nombre de comptes du marqueur sur l'axe Y.

7-2 Analyse de paramètre unique :

Un histogramme est un graphique à paramètre unique où l'axe des abscisses représente l'amplitude du paramètre étudié (en canaux) et l'axe des ordonnées représente le nombre d'événements (cellules) par canal. Chaque événement placé dans le canal correspond à sa valeur du signal. Des signaux d'intensités identiques s'accumulent dans le même canal. Des signaux

plus lumineux sont affichés dans les canaux à droite des signaux du gradateur. Idéalement, la cytométrie en flux est adaptée à un seul pic distinct. Cependant, l'analyse est parfois effectuée sur une population mixte de cellules résultant en plusieurs pics sur l'histogramme.

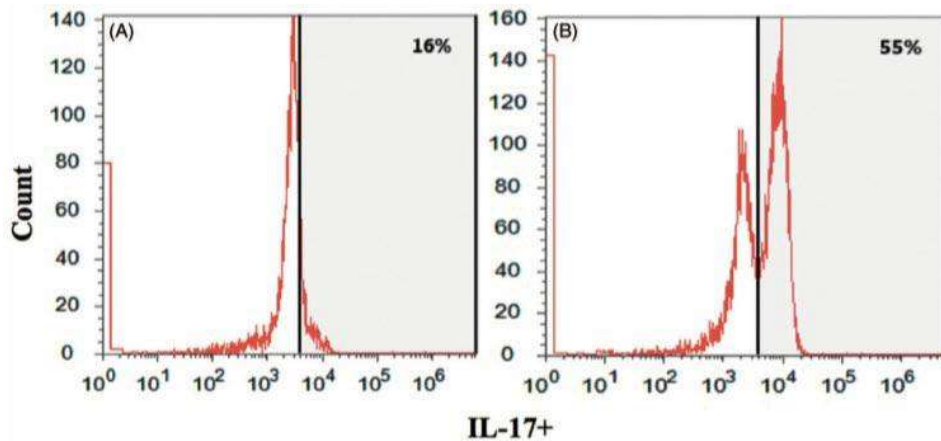


Figure 22: Un histogramme à un paramètre unique. L'axe des x représente la valeur du signal du paramètre en nombre de canaux (Count) et l'axe des y représente le nombre d'événements par numéro de canal (cellules IL17+)

7-3 Analyse de paramètres multiples :

D'autres méthodes d'affichage des données sont disponibles pour les tracés à deux paramètres. Ce sont des graphiques qui affichent deux paramètres de mesure, un sur l'axe des x et un sur l'axe des y et le nombre de cellules sous la forme d'un tracé de densité de nuage de points (dot plot) ou d'une carte de contour. La couleur sert à coder les différentes fréquences des événements dans le diagramme de densité. Un marqueur de quadrant divise les tracés à deux paramètres en quatre sections pour distinguer les populations comme négatives, positives ou double positives. Le quadrant supérieur droit du graphique indique que les cellules sont doublement positives pour les deux marqueurs fluorescents. Le quadrant inférieur gauche affiche les événements qui sont négatifs pour les deux marqueurs. Le quadrant supérieur gauche indique que les cellules sont uniquement positives pour le paramètre de l'axe y. Le quadrant inférieur droit contient les événements qui sont positifs pour le marqueur de l'axe des x mais négatif pour l'axe des y.

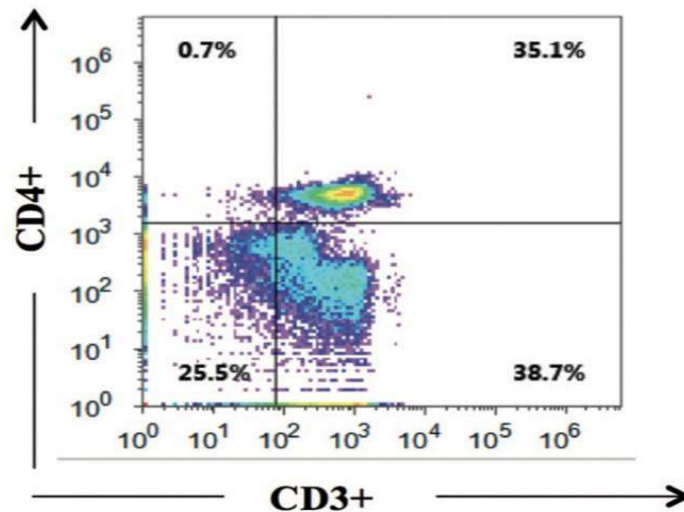


Figure 23: Les cellules mononucléaires du sang périphérique ont été marquées avec des anticorps CD4 et CD3.

8- APPLICATION DE LA CYTOMETRIE EN FLUX EN HEMATOLOGIE :

Les premiers cytomètres en flux étaient principalement utilisés pour dénombrement des cellules et, en effet, la même technologie est toujours utilisée en hématologie moderne dans la numération globulaire complète. La classification des cellules est devenue possible suite au développement des anticorps monoclonaux. Au début des années 1980, un grand nombre d'anticorps monoclonaux aux antigènes leucocytaires humains avaient été produit, et cela a révolutionné le domaine de la cytométrie en flux, permettant ainsi l'immunophénotypage par cytométrie en flux. La dernière décennie a vu des avancées majeures dans l'instrumentation de cytométrie en flux ainsi qu'une augmentation substantielle de la disponibilité des anticorps et fluorochromes. Des cytomètres avec huit couleurs (ou plus) sont maintenant disponibles comme instruments cliniques pour l'utilisation dans les laboratoires de Diagnostic. Il est désormais possible pour évaluer 10 paramètres (ou plus) simultanément. Plus le nombre de paramètres examinés est élevé, plus la quantité d'informations qui peut être obtenu à partir d'une seule préparation de cellules est élevée. Cette augmentation de l'information a élargi l'utilité de la cytométrie en flux pour étudier les antigènes.⁴⁴

8-1- Immunophénotypage :

L'immunophénotypage ou la caractérisation phénotypique des cellules est l'identification et la quantification d'un groupe cellulaire spécifique dans la population mixte utilisant la cytométrie en flux, par exemple les cellules immunitaires du sang. Les protéines spécifiques de la membrane de surface cellulaire, qui sont connus comme des marqueurs, peuvent être détectés en utilisant des anticorps. Ces antigènes spécifiques peuvent être exprimés sur plus d'un type cellulaire. Par conséquent, l'immunophénotypage des cellules peut être, accompli par coloration d'une seule cellule simultanément avec deux anticorps ou plus. Les cellules mononuclées du sang périphérique PBMC humains ont d'abord été isolées par centrifugation en gradient de densité par Ficoll-Hypaque. Ensuite, PBMC ont été étiquetés avec la combinaison d'anticorps de surface cellulaire dont anti-CD3, anti-CD4 et anti-CD14.

8-2 Identification des différentes lignées cellulaires

Toutes les cellules hématopoïétiques expriment le CD45 au cours de leur développement. L'expression du CD45 va persister sur les leucocytes tout au long de leur vie à l'exception des plasmocytes tandis que les érythrocytes et les plaquettes perdent l'expression de ce marqueur au cours de leur différenciation. En regardant le niveau d'expression du CD45 en association avec le SSC, on peut identifier les différentes lignées cellulaires. Les lymphocytes sont caractérisés par l'intensité la plus forte du CD45 et le signal le plus faible en SSC. La lignée érythrocytaire est caractérisée par la négativité du CD45 et un faible signal en SSC. Les monocytes montrent une expression du CD45 un peu plus faible que celle des lymphocytes et des caractéristiques intermédiaires en SSC entre les lymphocytes et les cellules myéloïdes. Les blastes montrent une expression faible du CD45 avec des caractéristiques de SSC variables, proche de celles des lymphocytes ou des monocytes. Enfin, les cellules granuleuses sont caractérisées par les signaux les plus intenses en SSC et une expression faible du CD45.⁴⁵

8-3 Identification des syndromes lymphoprolifératifs B :

L'analyse des lymphocytes B par CMF est réalisée en plusieurs étapes afin d'obtenir une démarche pertinente et de limiter le coût de l'analyse. La construction du panel d'anticorps de marquage est donc une étape clé de l'analyse. L'analyse des tumeurs à cellules B par la cytométrie passe par quatre étapes bien définies. Identification de la population des lymphocytes B ; les stades de développement des lymphocytes B représentés dans l'échantillon

sont évalués ; la clonalité de la population de cellules B est identifiée, et enfin un phénotype composite détaillé est produit, ce qui inclut l'identification de marqueurs spécifiques à la tumeur.

- Identification de la lignée cellulaire :

Le premier antigène de cellule B à être décrit était B1 (aujourd'hui connu sous le nom de CD20), il a été d'abord utilisé pour caractériser cellules malignes de patients atteints de lymphome et de leucémie en 1981. Depuis lors, de nombreux autres antigènes qui sont exprimés exclusivement sur les lymphocytes B ont été identifiés, y compris CD19, CD22, CD79a, CD79b et autres composants du complexe récepteur des lymphocytes B. Le marqueur le plus couramment utilisé pour le gating par cytométrie en flux des lymphocytes B est le CD19, car celui-ci est présent à tous les stades du cycle de vie d'une cellule B, des premiers progéniteurs aux plasmocytes différenciés en phase terminale et met en évidence les lymphocytes B immatures. Certains lymphomes à cellules B présentent une régulation négative de CD19, ce qui peut rendre la détection de ces populations cellulaires problématiques en utilisant CD19 seul, en particulier dans le contexte d'un fond de cellules B normales. Les niveaux d'expression bas de CD19 sont observés le plus souvent dans le lymphome folliculaire alors que le CD20 est fortement exprimé. Inversement le CD20 est faiblement exprimé dans la CLL. Il est donc conseillé d'utiliser des combinaisons de marqueurs de gating, par exemple CD19 et CD20.

- Stade de maturation :

Il est possible d'obtenir des informations sur stade de développement cellulaire en évaluant les antigènes qui ont une expression variable tout au long du cycle de vie de la cellule B. L'un des marqueurs les plus importants à cet égard est CD10. Les cellules progénitrices B sont CD10 positif et expriment le CD79a / b intracellulaire, manquent CD20 et n'ont pas d'immunoglobuline de surface. Comme les cellules mûrissent, l'expression de CD10 diminue et CD20 augmente et les cellules acquièrent des immunoglobulines de surface. Comme pour le gating, l'évaluation du stade de différenciation peut être améliorée en utilisant des marqueurs en combinaison (par exemple la combinaison CD20 CD10). Contrairement aux progéniteurs, les lymphocytes B néoplasiques dérivées du centre germinatif ont une forte expression du CD20 et ainsi les deux populations peuvent être distinguées si les antigènes corrects sont examinés ensemble. Le CD10 est exprimé par les cellules B immatures et les lymphocytes B de la zone

folliculaire du centre germinatif des ganglions, d'où l'expression forte du CD10 dans les LF. Les cellules B matures ont une faible expression du CD10.

- Clonalité de la population B :

Dans la grande majorité des néoplasmes à cellules B qui se présentent il y aura une grande population de cellules monoclonales exprimant une seule chaîne légère kappa ou lambda. L'expression de la chaîne légère est simple à évaluer à l'aide de cytométrie en flux, une fois l'immunoglobuline circulante enlevé par lavage. Une population monoclonale va entraîner une perturbation de l'équilibre des cellules exprimant des chaînes légères kappa et lambda, entraînant ainsi un rapport kappa/lambda en dehors de la plage de référence. La restriction des chaînes légères, cependant, n'est pas toujours indicative de la clonalité, et il existe des exemples dans la littérature de populations de lymphocytes B non clonaux réactifs qui présentent une restriction des chaînes légères. Cette restriction des chaînes légères est facilement observable en CMF et constitue un marqueur de clonalité indispensable dans l'analyse de la population lymphoïde B. L'utilisation de ce seul caractère de restriction des chaînes légères peut être insuffisante en cas d'un faible clone circulant. La combinaison avec des marqueurs aberrants de lignée lymphoïde B comme le CD5 permet de mettre en évidence de petites populations clonales qui se détachent de la population normale lymphocytaire B.⁴⁶

- Immunophénotype détaillé :

Après avoir fenêtré correctement la population clonale d'intérêt, il est possible d'examiner l'immunophénotype de ces cellules en détail. Chaque sous-population de cellules normales a un immunophénotype spécifique et des phénotypes anormaux caractérisent de nombreuses entités pathologiques courantes. La recherche d'expression des différents antigènes pathologiques permet de caractériser le clone et d'orienter dans la classification des hémopathies lymphoïdes. Le clone pathologique se distingue des cellules B normales par l'absence de marqueurs physiologiques des lymphocytes B ou par l'expression de marqueurs aberrants, par exemple le CD10 dans le lymphome folliculaire, les CD5 et CD23 dans la leucémie lymphoïde chronique, ou encore les CD103, CD25, CD11c dans la leucémie à tricholeucocytes. Un immunophénotype détaillé est non seulement important sur le plan Diagnostique, mais génère également des informations qui peuvent avoir une importance pronostic. Expression de certains antigènes, par

exemple CD38 dans les lymphocytes chroniques leucémie (LLC) ont des implications pronostics.

Tableau 2: Antigènes d'intérêt dans le diagnostic et le suivi des syndromes lymphoprolifératifs chroniques B⁴⁷

Marqueur	Expression normale	SLP-B
CD5	Lymphocytes T et minorité de lymphocytes B	LLC, LCM
CD10	Lymphocytes B et T immatures (centre germinatif), polynucléaires neutrophiles, minorité de lymphocytes B et T matures	LF
CD11c	Quelques lymphocytes B et T	HCL. Parfois faible expression dans LLC, LPL, LZM, SLVL
CD19	Lymphocytes B et plasmocytes	Marqueur de la lignée B
CD20	Lymphocytes B	Marqueur de la lignée B. Faible intensité d'expression dans LLC
Chaînes légères (kappa et lambda) en surface	Lymphocytes B	Indicateur de restriction isotypique
Chaînes légères (kappa et lambda) en intracytoplasmique	Plasmocytes, lymphocytes B	Indicateur de restriction isotypique
CD22	Lymphocytes B	Marqueur de la lignée B. Faible intensité d'expression dans LLC
CD23	Faiblement positif dans les lymphocytes B matures. Expression augmentée lors de l'activation.	Diagnostic différentiel LLC et autre syndrome lymphoprolifératif chronique CD5+
CD24	Expression intermédiaire sur précurseurs B et T.	LZM
CD25	Lymphocytes B et T activés.	HCL, associé à CD103, CD11c et CD123. Rares LPL, LZM, LCM, MW
CD27	Marqueur d'activation des lymphocytes T. Lymphocytes B mémoires.	LLC, SLVL, MZL, LPL-MW
CD38	Cellules centro-folliculaires, cellules T immatures, plasmocytes	Différenciation plasmocytaire Marqueur pronostique dans la LLC
CD43	Lymphocytes T et minorité de lymphocytes B	Expression aberrante dans la LLC Rares LCM et LZM
CD45	Marqueur pan-leucocytaire	Intérêt pour la distinction des hémopathies matures et immatures
CD49d	Lymphocytes B, T, NK, monocytes, plasmocytes	Marqueur pronostique dans la LLC
CD79b	Précurseurs B, plasmocytes. Expression variable sur lymphocytes B	Marqueur de la lignée B. Faible intensité d'expression dans LLC
CD81	Lymphocytes B et T	Intérêt diagnostique dans le MM. MRD LLC
CD103	Minorité de lymphocytes B.	HCL et rares MZL
CD160	Lymphocytes NK et T CD8	HCL (LLC ?)
CD200	Macrophages, cellules dendritiques, mastocytes, polynucléaires, lymphocytes B, lymphocytes T activés	Diagnostic différentiel LLC/LCM
FMC7	Lymphocytes B matures	Diagnostic différentiel LLC/LCM et autre syndrome lymphoprolifératif CD5+
Bcl-2	Lymphocytes T, minorité de lymphocytes B	FL
ZAP-70	Lymphocytes T, NK, précurseurs B	Marqueur pronostique dans la LLC

CHAPITRE 3 :
CLASSIFICATION DES SYNDROMES
LÝMPHOPROLIFÉRATIFS B ET
APPLICATION DE LA CYTOMETRIE EN
FLUX DANS LEUR DIAGNOSTIC

1-GENERALITES :

Les syndromes lymphoprolifératifs chroniques (SLPC), ou néoplasies lymphoïdes matures, c'est les hémopathies malignes les plus fréquentes ; ils regroupent un grand nombre d'hémopathies malignes clonales souvent indolentes mais rarement agressives avec des caractéristiques cliniques, biologiques, histologiques et génétiques variées. Ils dérivent d'une prolifération clonale des cellules lymphoïdes B, T ou NK. Les syndromes lymphoprolifératifs chroniques B sont classés selon l'OMS :

Dans cette classification, chaque entité définie par :

Le phénotype de la prolifération lymphocytaire : lymphomes B ou T

L'organisation du tissu (histologique) constituant les ganglions et le niveau de désorganisation de l'architecture ganglionnaire par la prolifération maligne

Le type de prolifération des cellules peut, alors, être, soit : folliculaire ou diffus

L'aspect des cellules (cytologique) : petites cellules, matures, grandes cellules, jeunes, cellules clivées ou non

La cytogénétique et La biologie moléculaire

Tableau 3: Classification OMS 2016 des néoplasies B matures ⁴⁸

Leucémie lymphoïde chronique B ² /lymphome lymphocytaire
Lymphocytose monoclonale B, type LLC ; Lymphocytose monoclonale B, type non LLC ^{1,2}
Leucémie polylmphocytaire B ²
Lymphome de la zone marginale splénique
Leucémie à tricholeucocytes
<i>Lymphome/leucémie B splénique, inclassable :</i>
<i>Lymphome B splénique diffus à petites cellules de la pulpe rouge</i>
<i>Leucémie à tricholeucocytes - variant²</i>
<i>Lymphome lymphoplasmocytaire :</i>
<i>Macroglobulinémie de Waldenström²</i>
Gammopathie monoclonale de signification indéterminée, IgM ^{1,2}
Maladie des chaînes lourdes μ ²
Maladie des chaînes lourdes γ
Maladie des chaînes lourdes α
Gammopathie monoclonale de signification indéterminée, IgG/A ^{1,2}
Myélome plasmocytaire ²
Plasmocytome solitaire des os
Plasmocytome extra-osseux
Maladie des dépôts monoclonaux d'immunoglobuline
Lymphome de la zone marginale extra-ganglionnaire du MALT
Lymphome de la zone marginale ganglionnaire
<i>Lymphome de la zone marginale ganglionnaire pédiatrique</i>
Lymphome folliculaire
Néoplasie folliculaire in situ ¹
Lymphome folliculaire testiculaire; Lymphome folliculaire de type duodénal
Lymphome folliculaire de type pédiatrique
Lymphome centrofolliculaire cutané primitif
Lymphome du manteau
Néoplasie in situ à cellules du manteau ¹

2-LA LEUCEMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE (LLC) A CELLULES B :

C'est l'une des leucémies les plus fréquentes dans l'hémisphère occidental, représentant pour environ un tiers de toutes les leucémies. Comme la plupart des syndromes lymphoprolifératifs, la LLC est considérée comme une maladie dite indolente : les patients sont initialement asymptomatiques et les symptômes apparaissent avec l'évolution de la maladie. La LLC a été initialement décrite par Dameshek comme un trouble cumulatif d'anomalies de lymphocytes immunologiquement incompétents. La maladie est liée à l'accumulation monoclonale maligne de lymphocytes matures de phénotype B CD5+ (il s'agit de lymphocytes B mémoire ayant déjà

rencontré l'antigène) l'accumulation des lymphocytes dans la moelle, le sang et les organes lymphoïdes secondaires est plutôt due à un défaut d'apoptose des cellules qu'à un excès de prolifération. Ceci explique l'évolution très lente de la maladie. De nombreuses nouvelles découvertes montrant que la maladie n'implique pas seulement l'apoptose perturbée mais a également une forte dépendance vis-à-vis du microenvironnement et de la prolifération. La cause de la LLC dans la plupart des cas n'est pas reconnue, bien qu'il y ait une forte prédisposition génétique à cette maladie dans certaines familles (une histoire familiale de LLC est retrouvée chez 8-10% des patients). Malgré cette prédisposition génétique élevée, aucune mutation mono génique commune n'a été associée à la LLC par rapport à d'autres tumeurs solides comme les tumeurs du sein et neuroendocrines.⁴⁹

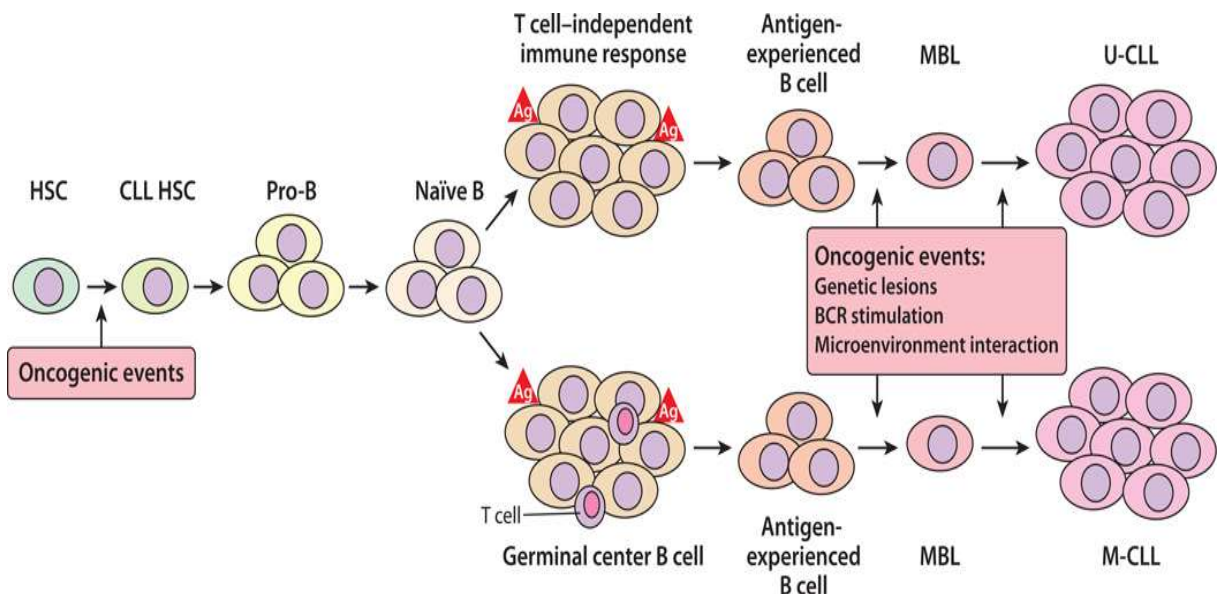


Figure 24: Un modèle pour le développement de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) :

Les mutations qui contribuent au développement de la LLC peuvent survenir à n'importe quel stade du développement des cellules B, y compris dans les cellules souches hématopoïétiques (CSH)

2-1 Incidence :

La LLC représente 1 % des cas de cancers et 12,5 % des hémopathies malignes, du moins en Europe. La LLC est rare dans les pays asiatiques. Le taux standardisé d'incidence ajusté à la population mondiale est de 3,6/100000 chez l'homme et 1,6 pour 100 000 chez la femme avec un sexe ratio de 1,9. L'âge médian de survenue est de 65 ans, le diagnostic de LLC est rare avant 40 ans, 45 % des cas incidents sont observés chez les patients de plus de 75 ans. Quand un des membres de la famille est atteint de LLC, le risque relatif pour les autres membres de la famille de développer une LLC est multiplié par 7,5. Le nombre de cas estimé en 2018 est de 4 674 ; 2 770 hommes contre 1 904 femmes. Le risque de développer un lymphome lymphoplasmocytaire/macroglobulinémie de Waldenström ou une leucémie à tricholeucocytes est aussi augmenté.⁵⁰

2-2-physiopathologie

La leucémogénèse concerne une lignée particulière de lymphocytes B : il s'agit de la lignée de lymphocyte B exprimant la molécule CD5 à la surface de la cellule. Il s'agit d'un lymphocyte B néoplasique dérivant d'une sous-population de cellules B du manteau folliculaire. Cette zone est constituée de lymphocytes B ayant des caractéristiques d'autoactivité immunologique et coexprimant un antigène T, l'Ag CD5. Les lymphocytes B CD5+ leucémiques envahissent la moelle osseuse et inhibent la différenciation des progéniteurs hématopoïétiques normaux. Ces lymphocytes sont bloqués en phase G0 du cycle cellulaire. L'évolution clinique de la LLC est maintenant reconnu pour impliquer un syndrome précurseur appelé Lymphocytose monoclonale à cellules B, correspondant à une prolifération monoclonale de petits lymphocytes B matures dans le sang, la moelle osseuse et les ganglions. D'après les recommandations les plus récentes de l'IWCLL (International workshop on CLL), une LCL ne peut être affirmée que si le nombre de lymphocytes B clonaux sanguins est supérieur ou égal à 5 G/L. En deçà, il convient de parler de lymphocytose B monoclonale (Monoclonal B-cell lymphocytose ou MBL).⁵¹

2-2-1 Rôle du microenvironnement :

Le microenvironnement tissulaire joue un rôle central dans la pathogenèse de la LLC. Comme mentionné ci-dessus, alors que la grande majorité des cellules LLC circulantes dans le sang ne se divisent pas et se reposent, les cellules LLC tissulaires prolifèrent à un rythme relativement

élevé. La prolifération des cellules LLC se produit dans des sites microanatomiques appelés centres de prolifération ou pseudo follicules. Les cellules CLL Ki-67+ proliférantes sont en contact intime avec des cellules accessoires, telles que des cellules T, des cellules stromales d'origine mésenchymateuse et/ou des cellules nourricières dérivées de monocytes. Des études d'expression génique ont montré que les cellules LLC isolées des ganglions lymphatiques et, dans une moindre mesure, de la moelle ont une expression plus élevée de E2F et MYC que les cellules LLC dans le sang. Dans ces tissus, en particulier dans les tissus lymphoïdes secondaires, il semble y avoir une amélioration de la signalisation BCR des cellules leucémiques et de l'activation des récepteurs de la famille du TNF, tels que l'activateur transmembranaire et le modulateur calcique et l'interacteur de ligand cyclophiline (TACI), l'antigène de maturation des cellules B (BCMA) et récepteur du facteur d'activation des cellules B (BAFF).⁵²

2-2-2 Rôle des anomalies génétiques :

Les cellules LLC hébergent généralement des délétions en 13q14, 11q22 - q23 ou 17p13 ou peuvent avoir une copie supplémentaire du chromosome 12 (trisomie 12). Leur valeur pronostic a été étudiée sur de larges cohortes de patients. Ces anomalies doivent être recherchées par technique FISH interphasique. L'avènement des technologies de séquençage de nouvelle génération, couplées aux analyses du nombre de copies de gènes, ont identifié des lésions génétiques supplémentaires dans la LLC, telles que des mutations dans NOTCH1, SF3B1 et BIRC3. De telles mutations pourraient être utilisées comme cibles thérapeutiques potentielles ou comme biomarqueurs qui peuvent distinguer les patients qui peuvent avoir des résultats cliniques différents. Les mutations activatrices de NOTCH1 surviennent dans ~ 60 % des leucémies aiguës lymphoblastiques de la lignée T. Dans la LLC, des mutations activatrices de NOTCH1 ont été détectées dans environ 10 % des cas nouvellement diagnostiqués, mais dans 15 % à 20 % des cas de LLC en progression et/ou en rechute. Les mutations NOTCH1 sont également plus fréquentes dans les populations de cellules LLC qui expriment des IGHV non mutés et qui ont la trisomie 12.⁵³

2-2-3 Rôle des antigènes dans la sélection des cellules B de la leucémie :

Certains Ig exprimées dans la LLC peuvent réagir avec l'antigène exprimé par les cellules en apoptose, y compris les protéines du cytosquelette. Ces Ig réagissent avec la chaîne lourde de

myosine IIA non musculaire, qui est exprimée sur certaines cellules apoptotiques, à savoir les cellules apoptotiques exposées à la myosine (MEAC). La liaison aux MEAC est plus fréquemment observée sur les cellules LLC exprimant des IGHV non mutés que sur les cellules LLC exprimant des IGHV mutés. Les Ig avec différentes caractéristiques stéréotypées ont des schémas distincts de réactivité antigénique, suggérant que plus d'un antigène ou épitope antigénique peut être responsable de la sélection du répertoire distinctif exprimé dans la LLC. En plus de l'auto-antigène, plusieurs autres antigènes microbiens ou associés au virus peuvent contribuer à la sélection de l'Ig exprimée dans la LLC. Par exemple, les Ig associées à la LLC codées par IGHV1-69 peuvent réagir avec diverses bactéries gram positives ou gram-négatives ou avec des antigènes hautement conservés du cytomégalovirus ou d'autres virus de l'herpès. De tels antigènes peuvent également contribuer à la sélection des cellules B dans d'autres conditions pathologiques.⁵⁴

2-2-4 Rôle des voies de signalisation :

La signalisation BCR joue un rôle crucial dans la pathogenèse de la LLC. La capacité de signalisation du BCR est un élément important du potentiel prolifératif de cette maladie et est très fortement pronostic à la fois en termes de PFS et de survie globale. L'activation du BCR recrute des kinases, telles que la tyrosine kinase de la rate (SYK) et la kinase SRC LYN, qui phosphorylent les motifs d'activation à base de tyrosine des immunorécepteurs (ITAM) des protéines accessoires du complexe BCR, à savoir CD79a et CD79b. La phosphorylation des ITAM de CD79a et CD79b permet le recrutement de protéines adaptatrices et d'autres kinases, telles que la tyrosine kinase de Bruton ou la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), dans le complexe de molécules accessoires BCR. L'activation de ces molécules de signalisation conduit à l'activation en aval d'AKT/mTOR, NF- κ B et/ou ERK (kinase régulée par le signal extracellulaire). Des études sur les cellules LLC ont démontré que la signalisation BCR peut être améliorée par la protéine -associée de 70 kD qui est exprimé par environ la moitié de tous les cas de LLC, en particulier ceux qui ont une maladie clinique relativement agressive et utilisent des gènes IGHV non mutés. Le ZAP-70 peut améliorer la signalisation BCR dans la LLC ce qui explique probablement son association avec une maladie agressive. La stimulation antigénique est reproduite in vitro en exposant les cellules à un anticorps anti-IgM immobilisé. Ainsi on peut définir deux profils de patients LLC en fonction de la réponse cellulaire : chez

les patients « répondeurs », la fixation de l'anti-IgM provoque une activation cellulaire, une entrée en phase G1 et une inhibition de l'apoptose spontanée. Chez les « non répondeurs », il n'y a pas de signalisation. La capacité de répondre à l'engagement du BCR est particulièrement corrélée avec l'évolutivité de la maladie, y compris chez des patients avec statut IGHV muté, et/ou dont les cellules n'expriment pas ZAP-70.⁵⁵

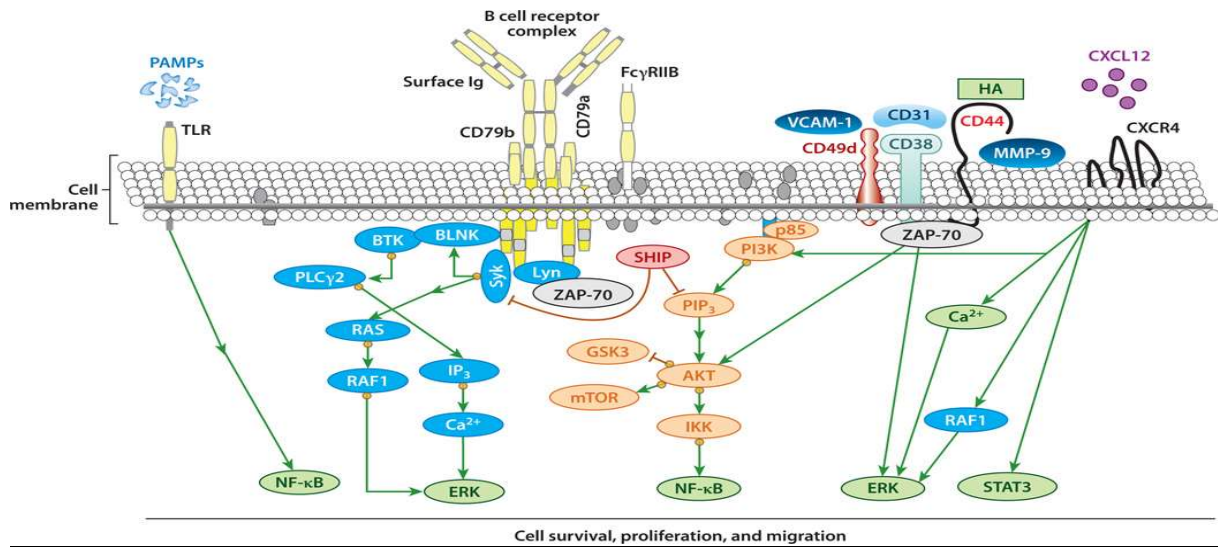


Figure 25: Signalisation BCR dans la LLC

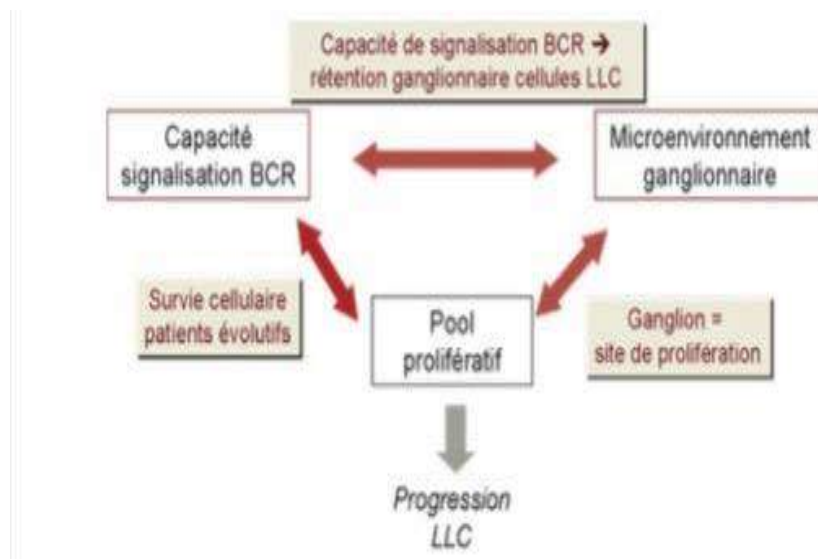


Figure 26: Interactions entre les différents mécanismes aboutissant à la prolifération des cellules LLC in vivo

2-3 Présentation clinique de la maladie :

Les patients atteints de LLC ne présentent souvent aucun symptôme, le diagnostic étant posé en conséquence d'une lymphocytose asymptomatique, d'une hypertrophie des ganglions lymphatiques, ou splénomégalie détectée à l'examen physique pour une autre cause ou dans le cadre de leur évaluation de soins de santé de routine. Un autre petit groupe de patients présentent des symptômes de remplacement médullaire (fatigue, dyspnée, ou pétéchies secondaires à l'anémie et à la thrombocytopenie), lymphadénopathie symptomatologique ou hépatosplénomégalie, complications auto-immunes (anémie hémolytique ou purpura thrombocytopenie idiopathique), ou symptômes B (fièvres, sueurs nocturnes et perte de poids). Dans ce groupe, il est beaucoup plus fréquent de trouver des antécédents d'infections, qui sont probablement lié à l'immunosuppression de la maladie présente en conséquence de l'expansion de la maladie. Une présentation moins fréquente chez les patients atteints de la maladie à un stade précoce est un trouble psychologique et une fatigue qui, dans certains cas, est au moins partiellement causée par l'incertitude avec le nouveau diagnostic de LLC. Ceci est plus souvent présent chez les patients plus jeunes que chez les patients plus âgés. Une petite proportion de patients atteints de LLC aura des infiltrats pulmonaires au diagnostic qui sont représentatifs de l'implication de la LLC dans certains cas et une infection active chez d'autres. De toute évidence, un large éventail de présentations existe pour les patients atteints de LLC. ⁵⁶La présence d'adénopathies et/ou de cytopénies sont à la base d'une classification clinique en trois stades, établie par JL Binet en 1981 et sur laquelle reposent encore aujourd'hui les décisions thérapeutiques

- Le stade A (environ 80 % au diagnostic) est caractérisé par l'absence d'adénopathie ou la présence de petites adénopathies dans moins de trois aires ganglionnaires et l'absence de cytopénie. Une atteinte le plus souvent bilatérale des aires ganglionnaires cervicales, axillaires, inguinales, une hépatomégalie ou une splénomégalie. Cette classification fait donc appel à l'examen clinique et non aux techniques d'imagerie.
- Le stade B (environ 15 % au diagnostic) est défini par l'atteinte d'au moins trois aires ganglionnaires, sans anémie ni thrombopénie.

- Le stade C (environ 5 % au diagnostic) se définit par la présence d'une anémie (hémoglobine < 10 g/dl) et/ou d'une thrombopénie (plaquettes < 100 × 10⁹/l), quel que soit le nombre d'aires lymphoïdes atteintes.
- Au cours de l'évolution, environ la moitié des stades A vont évoluer vers un stade B ou C.

*Tableau 4: Stades cliniques selon Rai et Binet*⁵⁷

Stades selon Rai	Stades selon Rai modifiés		Survie médiane
0	Bas risque	Lymphocytose (sang ou moelle) seule	150 mois
1	Risque intermédiaire	Lymphocytose et adénopathie	101 mois
2		Lymphocytose et splénomégalie et/ou hépatomégalie	71 mois
3	Haut risque	Lymphocytose et anémie (hémoglobine < 110 g/l)	19 mois
4		Lymphocytose et thrombopénie (plaquettes < 100 G/l)	19 mois
Stades selon Binet			
A	Bas risque	Adénopathies (< 3 aires ganglionnaires)	Comme population générale
B	Risque intermédiaire	Adénopathies (≥ 3 aires ganglionnaires)	84 mois
C	Haut risque	Hémoglobine < 100 g/l ou plaquettes < 100 G/l	24 mois

Le staging selon Rai, développé aux Etats-Unis, se base sur le principe d'accumulation progressive de cellules néoplasiques avec initialement une lymphocytose en augmentation (stade 0, survie médiane de 150 mois), suivie par l'apparition d'adénopathies et d'une hépatosplénomégalie en progression (stades 1 et 2, survie : 101 et 71 mois), pour finir par une infiltration médullaire entraînant une anémie et une thrombopénie (stades 3 et 4, survie : 19 mois).

Le staging selon Binet, développé en France, est basé sur l'implication ou non de cinq sites lymphoïdes potentiels, accessibles à la palpation, comprenant les régions cervicale, axillaire, inguinale, splénique et hépatique (stade Binet A avec < 3 sites, et stade B ≥ 3 sites) ainsi que sur la présence d'une anémie ou d'une thrombopénie (stade Binet C quels que soient les sites atteints). La survie médiane des patients en stade A est similaire à celle de la population générale, tandis que pour le stade B elle est de 84 mois, et de 24 mois pour le stade C.

2-4 Critères de Diagnostic :

Le diagnostic de LLC doit être évoqué devant toute lymphocytose persistante de l'adulte, isolée ou non. Le diagnostic positif de la LLC se fait le plus souvent dans le cadre de l'exploration étiologique d'une polyadénopathie. Les critères du diagnostic de la LLC se sont modifiés à l'occasion de l'International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukaemia en 2008

(IWCLL) et nécessitent la présence combinée de trois critères : une lymphocytose $> 5\ 000/\text{mm}^3/\text{L}$ [$5\ \text{G/L}$], persistance de la lymphocytose plus de trois mois, et la présence de cellules lymphoïdes d'aspect mature de petite taille avec une chromatine mottée à l'examen du frottis sanguin coloré au MGG. NFS sanguin montre une hyperleucocytose constante retrouvée sur plusieurs NFS mais d'intensité variable ; ni la biopsie ganglionnaire, ni la biopsie médullaire ne sont indispensables au diagnostic dans les formes classiques. Avec comme examen clé l'immunophénotypage lymphocytaire sur sang périphérique qui montre une forte positivité de CD5, CD19 et CD23 et une faible expression des molécules de membrane du lymphocyte B.⁵⁸

2-4-1 Cytologie :

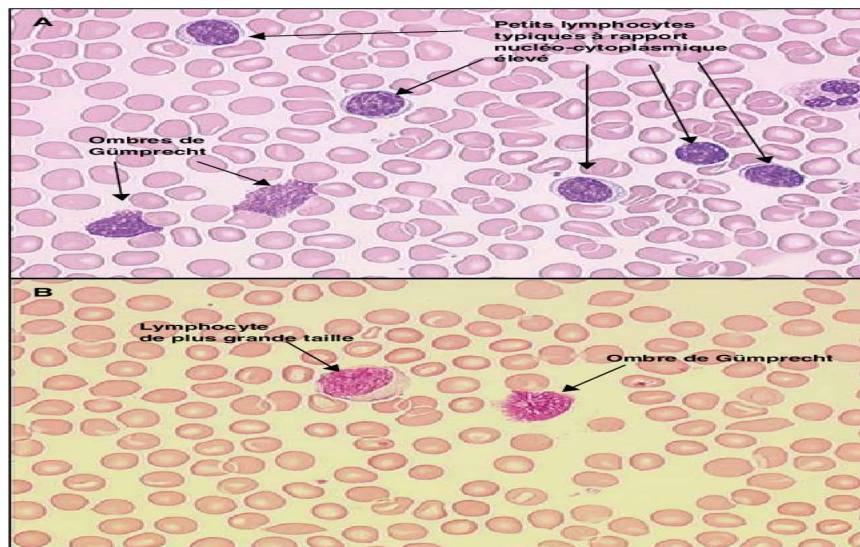


Figure 27: Aspect du frottis sanguin montrant A : petits lymphocytes typiques de la LLC et présence d'ombres de Gümprécht ; B : lymphocytes de LLC avec un rapport nucléocytoplasmique plus faible.⁵⁹

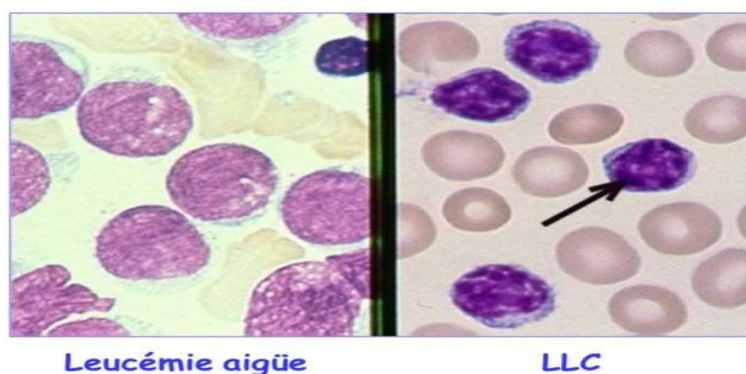


Figure 28: Aspect cytologique de la LLC comparé à celui de la leucémie aigüe

2-4-2 Immunophénotypage par cytométrie en flux :

La méthodologie la plus fiable pour le diagnostic de la LLC est l'immunophénotypage par cytométrie en flux (IFC). L'IFC est généralement effectué chez tous les patients atteints de lymphocytose, afin de confirmer le diagnostic de LLC, suspectée par morphologie et données clinique. Il n'y a pas de marqueur unique exclusivement exprimé sur les cellules LLC, mais un immunophénotype composite qui intègre de nombreux marqueurs de cellules B et aide à distinguer la LLC d'autres néoplasmes à cellules B matures (MBCN). Les critères de diagnostic de l'OMS, de l'IWCLL et du NCCN pour la LLC sont basés sur la morphologie et l'immunophénotype des cellules B néoplasiques avec coexpression de CD19, CD5, CD23, avec une faible expression de CD20 et des immunoglobulines monoclonales de surface (sIg). Les critères diagnostiques actuels présentent certaines limites affectant la reproductibilité, notamment en ce qui concerne la flexibilité dans l'exigence de présence ou absence de chaque marqueur ainsi que dans le niveau d'expression requis de chaque marqueur. La définition de l'OMS indique que les cellules LLC coexpriment généralement CD5 et CD23 et qu'en utilisant cytométrie en flux, les cellules tumorales expriment une surface dim IgM/IgD, CD20, CD22, CD5, CD19, CD79a, CD23, CD43 et CD11c. CD10 est négatif et FMC7 et CD79b sont généralement négatifs ou faiblement exprimés en LLC typique. On considère également que « certains cas peuvent présenter un immunophénotype atypique (par exemple CD5- ou CD23-, FMC71 ou CD11c1, sIg fort, ou CD79b1). Les directives actuelles de l'IWCLL autorisent également des variations dans les niveaux d'expression des marqueurs : Les cellules LLC coexpriment l'antigène des cellules T CD5 et l'antigène de surface des cellules B CD19, CD20 et CD23. Les niveaux de sIg, CD20 et CD79b sont typiquement bas par rapport à ceux trouvés sur cellules B normales. Chaque clone de cellules leucémiques est restreint à l'expression de chaînes légères d'immunoglobulines kappa ou lambda. Les variations de l'intensité de l'expression de ces marqueurs peuvent exister et n'empêchent pas l'inclusion d'un patient dans les essais cliniques pour la LLC.⁶⁰

Sur la base du profil antigénique, Matutes et al conçu en 1994⁶¹ un système de score immunologique (score de Matutes, MS) pour assurer le diagnostic de LLC. Dans ce système de notation, une valeur de 0 ou 1 a été attribuée selon l'expression des cinq marqueurs de CD5, CD23, FMC7, immunoglobuline de surface M (sIgM) et CD79b. La plupart des LLC. Le profil

phénotypique d'une LLC avec un score de Matutes à 5 ou ≥ 4 . Un score strictement inférieur à 3 exclut une LLC. Des cas de lymphoproliférations avec un score ambigu à 3 font évoquer une LLC de phénotype atypique ou un autre SLP-B.⁶²

Tableau 5 : Système de notation pour le diagnostic différentiel des maladies chroniques leucémie lymphoïde (LLC)⁶³

Marqueurs	Points	
	0	1
Intensité des Ig de surface	Modérée/Forte	Faible
CD5	-	+
CD23	-	+
FMC7	+	Faible/-
CD22 ou CD79b	+	Faible/-

L'appartenance des lymphocytes à la lignée B est déterminée par l'expression du marqueur CD19. La détection d'une chaîne légère kappa ou lambda permet d'affirmer la monotypie et la diminution de son expression reflète la diminution de la densité antigénique du récepteur B à l'antigène (BCR) par rapport aux cellules B normales, qui est une caractéristique de cette maladie. La molécule CD5, habituellement observée à la surface des lymphocytes T et sur une minorité de lymphocytes B à l'état normal, et le CD23. L'immunophénotype caractéristique de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) à cellules B : CD5+, CD23+, FMC7-, CD20 dim+, immunoglobuline de surface clonale (sIg) dim+.

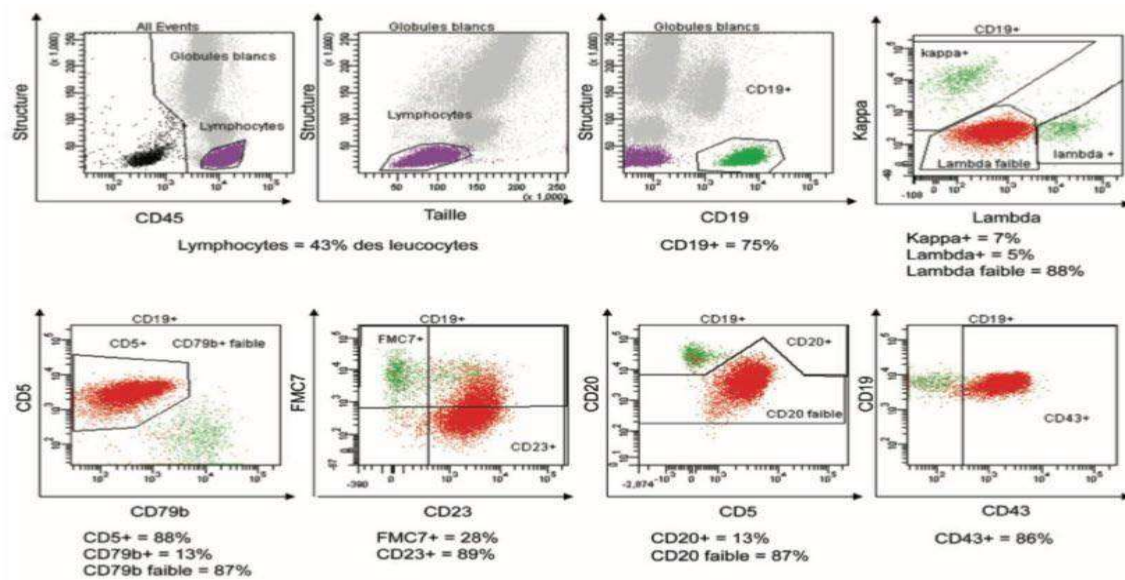


Figure 29: Profile immunophénotypique d'une LLC.

Les lymphocytes (en violet), représentant 43 % des globules blancs, sont repérés par leur forte expression du CD45 et par leur structure « peu complexe ». Les lymphocytes B (en vert) sont isolés des lymphocytes totaux par leur expression du CD19. Les cellules de LLC (en rouge), représentant 88 % des

Lymphocytes B, présentent ici des caractéristiques typiques : monotypie lambda de faible intensité, CD5+, CD23+, CD79b de faible intensité, FMC7-(score de Matutes/Moreau à 5). Elles sont également CD20+ de faible intensité et CD43+. En comparaison, la population B résiduelle normale est visualisée en vert. Ce phénotype permet de porter le diagnostic de LLC. CD200, une glycoprotéine sur la membrane de surface des lymphocytes B normaux, des précurseurs des lymphocytes B, de certains lymphocytes T, des cellules dendritiques et des neurones, a été décrite pour la première fois en 2009 comme étant uniformément exprimée dans la LLC, mais absente dans les cellules de lymphome du manteau (LCM). Depuis lors, son rôle potentiel s'est élargi et considéré aussi précieux que CD23 dans le Diagnostic des syndromes lymphoprolifératifs B.⁶⁴

3- LYMPHOCYTOSE MONOCLONALE B TYPE LLC / TYPE NON LLC :

La lymphocytose B monoclonale (MBL) est définie comme la présence d'une population de cellules B clonales dans le sang périphérique avec moins de $5 \times 10^9/L$ de cellules B et aucun autre signe d'un trouble lymphoprolifératif. La majorité des cas de MBL ont l'immunophénotype de leucémie lymphoïde chronique (LLC). La MBL peut être classée en nombre faible ou élevé selon que le nombre de lymphocytes B est supérieur ou inférieur à $0,5 \times 10^9/L$. La MBL de faible numération peut être détectée chez ~5 % des adultes de plus de 40 ans lorsqu'elle est évaluée à l'aide de tests de cytométrie en flux de sensibilité standard. Un certain nombre de caractéristiques biologiques et génétiques distinguent les MBL à faible numération des MBL à numération élevée. Alors que la MBL à faible numération évolue rarement vers la LLC, la MBL à forte numération évolue vers la LLC nécessitant un traitement à un taux de 1 à 2 % par an. La MBL à nombre élevé se distingue de la Rai 0 CLL selon que le nombre de cellules B est supérieur ou inférieur à $5 \times 10^9/L$.⁶⁵

3-1 Incidence :

La LLC est la leucémie la plus courante dans le monde occidental et aux États-Unis, avec une incidence de 4,2:100 000/an .On estime que la fréquence de MBL est cent fois plus fréquente

que la LLC . La MBL de type LLC est une constatation courante dans le sang périphérique de sujets en bonne santé, peu importe leur origine géographique ou leur contexte , la population étudiée (population générale avec une numération formule sanguine normale, hospitalisation externe, âge, sexe) et la sensibilité de cytométrie en flux . La MBL de type LLC varie avec l'âge .la MBL est très rare chez les moins de 40 ans, et la prévalence augmente avec l'âge, atteignant 75 % chez les patients plus âgés de 90 ans.⁶⁶

3-2 Pathogénèse :

les expansions oligoclonales des lymphocytes B CD5+ peuvent évoluer vers une lymphocytose monoclonale des lymphocytes B qui peut évoluer vers la LLC .La plupart des études biologiques se sont concentrées sur les MBL de type LLC. Les anomalies cytogénétiques sont très proches de celles retrouvées dans la cytogénétique de la LLC. La délétion 13q14 et +12 sont les aberrations chromosomiques les plus fréquentes impliquant près de 50 % et 10 à 20 % des cas de MBL . Le gène IGHV répertoire est différent dans MBL et CLL : l'utilisation de IGHV3-23 et IGHV4-59/61 est surexprimée dans MBL, et IGHV1-69 est sous-exprimé. Les corrélations avec les infections chroniques suggèrent que la stimulation chronique du système immunitaire peut jouer un rôle dans la physiopathologie. La lymphocytose monoclonale à cellules B de type LLC est considérée comme une lésion précurseur de la LLC : pratiquement toutes les LLC évoluent à partir d'une lymphocytose monoclonale à cellules B, bien que tous les cas de lymphocytose à cellules B monoclonales n'évoluent pas vers la LLC.⁶⁷

3-3 Présentation clinique :

Les patients atteints de MBL sont souvent asymptomatique , absence d'adénopathie, de splénomégalie et d'hépatomégalie, et toute autre caractéristique de syndromes lymphoprolifératifs B (B-CLPD) ou symptômes liés à la maladie (perte de poids involontaire, fatigue importante avec Eastern Cooperative Oncology Groupe (ECOG).

3-4-1 Cytologie :

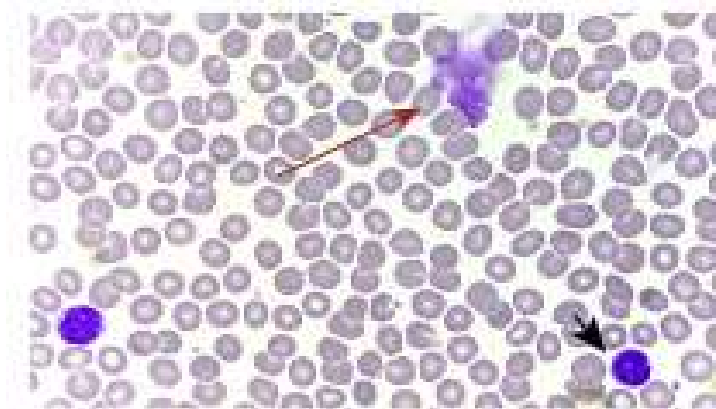


Figure 30: Cellules lymphoïdes matures similaires à celles observées dans la leucémie lymphoïde chronique.

Patient avec cellules lymphoïdes matures de type LLC avec chromatine agglutinée mature (flèche noire) et ombre de Gumprecht (flèche rouge).⁶⁸

3-4-2 Immunophénotypage par cytométrie en flux :

Basé sur les profils immunophénotypique de cellules lymphoïdes périphériques anormales, la MBL est classée en trois types : type LLC, type LLC atypique et type non LLC. En raison de l'amélioration de la détection et de l'identification des cellules B clonales par des techniques de cytométrie en flux de plus en plus sensibles, un très faible niveau de cellules B clonales peut également être détecté dans le sang périphérique, en particulier dans la population âgée en bonne santé. Similaire à CLL, MBL semble hétérogène avec des profils différents. Selon l'immunophénotype, les catégories suivantes ont été identifiées

MBL type LLC (représentant 70 à 75 % de la MBL) : CD19+ des cellules B appartenant à ce groupe sont positives pour CD5 et CD23, expriment de faibles niveaux de CD20 (CD20dim) et de chaînes légères et lourdes de surface (kappa ou lambda dim, apparemment négatifs, et principalement IgM et/ou IgD dim), avec absence de FMC7 et une faible expression ou absence de CD79b ou CD22 comme on le trouve généralement dans les cas de LLC

MBL type LLC atypique : CD19+ des cellules B sont positives pour CD5, mais n'expriment pas (ou expriment à très faible densité et en faible pourcentage) CD23 et/ou montrent des niveaux élevés d'expression de CD20 (CD20 brillant). Pour distinguer MBL Type LLC de

MBL type LLC atypique, l'expression CD200 pourrait être utile. L'absence de t (11 ; 14) doit être confirmée pour exclure le diagnostic de lymphome à cellules du manteau (MCL) ;

MBL type non LLC (CD5-négatif) : CD19+ des cellules B sont négatives pour l'expression de CD5, n'expriment aucun autre marqueur distinctif d'autres syndromes lymphoprolifératifs (par exemple, CD103 ou CD10), étant ainsi potentiellement lié aux cellules B des lymphomes de la zone marginale ou lymphoplasmocytaires.⁶⁹

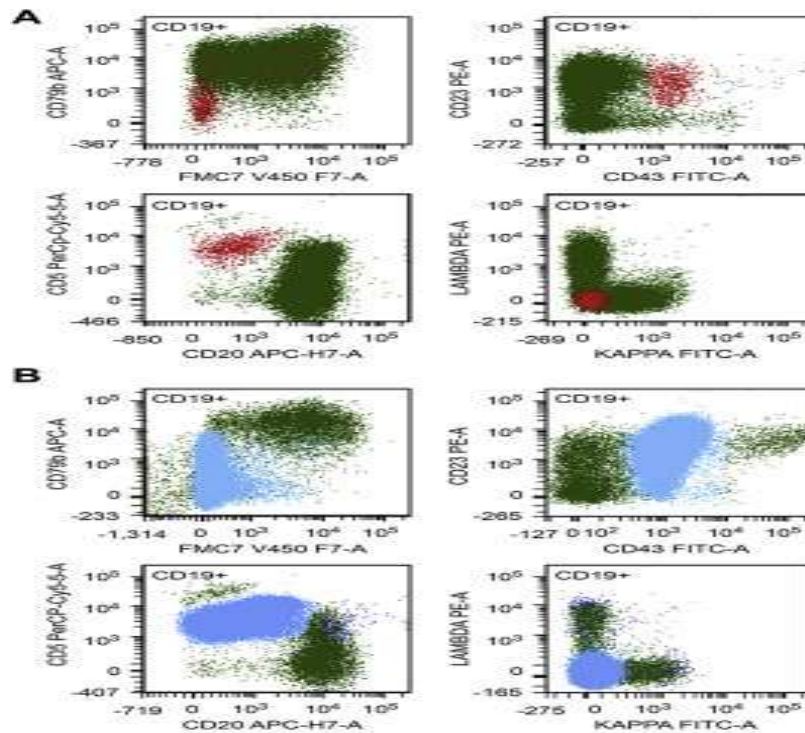


Figure 31: Profile immunophénotypique d'une lymphocytose monoclonale à cellules B (MBL) de type leucémie lymphoïde chronique (LLC) par cytométrie en flux.

A : Exemple de MBL de type LLC à faible numération dans des échantillons de sang avec une combinaison CD19/CD5/CDCD23/CD24/CD79b/FMC7/kappa/lambda. Les cellules B normales sont en vert et les cellules MBL de type LLC sont indiquées en rouge. La MBL de type LLC représente 0,4 % des lymphocytes totaux (nombre absolu de lymphocytes B anormal = $0,006 \times 10^9/L$). B : Exemple de MBL de type LLC à nombre élevé dans des échantillons de sang avec une combinaison CD19/CD5/CDCD23/CD24/CD79b/FMC7/kappa/lambda. Les cellules B normales sont en vert et les cellules MBL de type LLC sont indiquées en bleu. La MBL de type LLC représente 81 % du total lymphocytaire (nombre absolu de lymphocytes B anormal : $4,4 \times 10^9/L$).

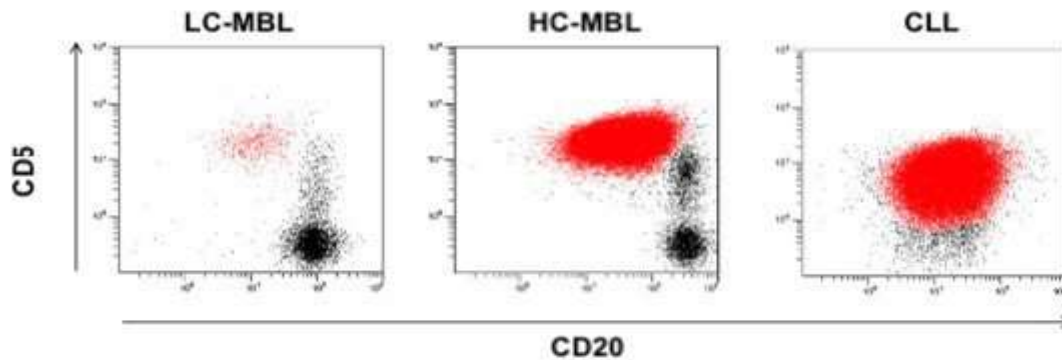


Figure 32: Profil immunophénotypique identique mais signification biologique différente dans la LC-MBL, la HC-MBL et la LLC.

De droite à gauche, des dot plots représentant l'expression CD20 et CD5 sur CD19+ des cellules B d'un sujet LC-MBL, HC-MBL et LLC sont représentées. Les trois conditions sont caractérisées par l'expression de CD5 avec CD20dim et sont pratiquement impossible à distinguer, sauf pour la taille du clone et la proportion de cellules B résiduelles normales.

4-LEUCEMIE PROLYMPHOCYTAIRE B :

Les leucémies prolymphocytaires (PLL) sont des tumeurs malignes lymphoïdes matures de la lignée des lymphocytes B (B-PLL) ou T (T-PLL). Lorsqu'elle a été décrite pour la première fois comme une entité pathologique dans les années 1970, la PLL était considérée comme une variante de la leucémie lymphoïde chronique (LLC), bien qu'elle ne présente pas les manifestations cliniques typiques de la LLC. Les leucémies prolymphocytaires B-PLL et T-PLL sont des troubles rares, généralement avec une évolution clinique agressive et un pronostic sombre. Dans l'ère de l'immunophénotypage, la différenciation entre les sous-types de cellules T et B est devenue simple et les deux maladies sont désormais incluses dans la classification des hémopathies malignes de l'Organisation mondiale de la santé (OMS). La combinaison de la morphologie, de l'immunophénotypage, des diagnostics cytogénétiques et moléculaires sépare de manière fiable la B-PLL et la T-PLL les unes des autres et des autres troubles. Cependant, il existe un chevauchement morphologique et immunophénotypique considérable avec d'autres troubles lymphoïdes, y compris le lymphome à cellules du manteau (LCM), la leucémie lymphoïde chronique avec augmentation des prolymphocytes et le lymphome de la zone marginale splénique. La leucémie prolymphocytaire B est une maladie

lymphoproliférative rare caractérisée par la prolifération clonale de prolymphocytes, impliquant principalement le sang, la moelle osseuse et la rate, avec la présence de plus de 55% de prolymphocytes dans le sang périphérique (PB). Les cas de LLC avec prolymphocytes sont exclus, ainsi que les proliférations lymphoïdes avec la translocation t(11;14)(q13;q32) ou exprimant SOX11, qui correspondent à des formes leucémiques du lymphome du manteau.⁷⁰

4-1-Incidence :

Les leucémies prolymphocytaires B et T sont rares, représentant environ 3 % de toutes les leucémies lymphoïdes matures la T-PLL étant plus fréquente que la B-PLL. La leucémie prolymphocytaire à cellules B (PLL-B) est une maladie rare, représentant moins de 1 % des tumeurs malignes à cellules B matures. Les patients atteints de B-PLL ont un âge médian de 69 ans avec une prédominance masculine, Le M : F ratio est de 1.6 :1.⁷¹

4-2-Physiopathologie :

Seules quelques études cytogénétiques ont été rapportées dans la B-PLL en raison de la rareté de la maladie et de la difficulté d'obtenir prolymphocytes en métaphase. Le prolymphocyte serait issu d'une cellule B mémoire après passage par le centre germinatif. La B-PLL, en tant que telle, n'a pas de signature cytogénétique distincte, et seules quelques études cytogénétiques ont été rapportées dans la littérature. Les anomalies cytogénétiques les plus fréquemment rapportées comprennent les réarrangements et la surexpression de MYC (observés dans environ 50 % des cas, les délétions de 17p (le bras chromosomique qui porte le gène TP53) et les mutations de TP53 avec une incidence rapportée de 53 % l'incidence est la plus élevée signalés parmi tous les sous-types de tumeurs malignes à cellules B. Il n'y a pas d'anomalie chromosomique spécifique à la B-PLL, cependant des points d'arrêt impliquant 14q32 et t(11;4)(q13;q32) sont trouvés dans 20% des cas. La fréquence d'anomalie p53 est la plus élevée (53%) de toutes les leucémies lymphoïdes malignes. Des délétions à 11q23 et 13q14 (qui survient dans environ 25 % des cas) ont été reporté par analyse (FISH).⁷²

4-3- Présentation clinique de la maladie :

De manière caractéristique, les patients présentent une augmentation rapide du nombre de lymphocytes ainsi qu'une splénomégalie, et une lymphadénopathie minimale. Une lymphadénopathie de faible volume, des éruptions cutanées, un œdème périphérique et des épanchements pleuro-péritonéaux sont observés relativement fréquemment dans la PLL des

cellules T (T-PLL) mais pas dans les cellules BPLL (B-PLL). L'atteinte du système nerveux central (SNC) a été décrite dans les deux, mais reste rare. Une minorité de patients peuvent être asymptomatiques au moment du Diagnostic, IL s'agit de La phase « indolente » qui peut persister pendant une durée variable. Cependant, la progression peut être très rapide lorsqu'elle survient, et les patients doivent donc être étroitement surveillés (chaque 1 à 3 mois selon le taux de changement).⁷³

4-4- Critères diagnostique :

La B-PLL est extrêmement rare et son diagnostic précis peut être difficile car la B-PLL a une présentation clinique similaire à d'autres tumeurs malignes à cellules B matures, y compris la leucémie lymphoïde chronique. Morphologiquement Les prolymphocytes sont des cellules de taille moyenne (deux fois la taille de Lymphocyte de la leucémie lymphoïde chronique (LLC)) avec un rapport nucléaire à cytoplasmique élevé, un seul nucléole et un cytoplasme granulaire basophile. En B-PLL, les prolymphocytes devraient représenter plus de 55 % des cellules lymphoïdes du sang périphérique, et la proportion dépasse généralement 90 %. La cytogénétique révèle une forte expression des gènes 13q del, 11q del, 17p del, 6qdel et une absence du t (11 ; 14). Malgré les similitudes cliniques et morphologiques, les sous-types de cellules T de la bande de la PLL peuvent être facilement distingués par marqueurs immunologiques en utilisant l'immunophénotypage par CMF.⁷⁴

4-4-1 Cytologie :

Les prolymphocytes sont des cellules de taille moyenne avec une quantité variable de cytoplasme basophile léger, un noyau rond, ovale ou dentelé, modérément chromatine condensée et un nucléole proéminent. Les coupes de biopsie médullaire montrent souvent une infiltration diffuse par les prolymphocytes néoplasiques. Les frottis de moelle osseuse montrent des amas ou feuillets de prolymphocytes.⁷⁵

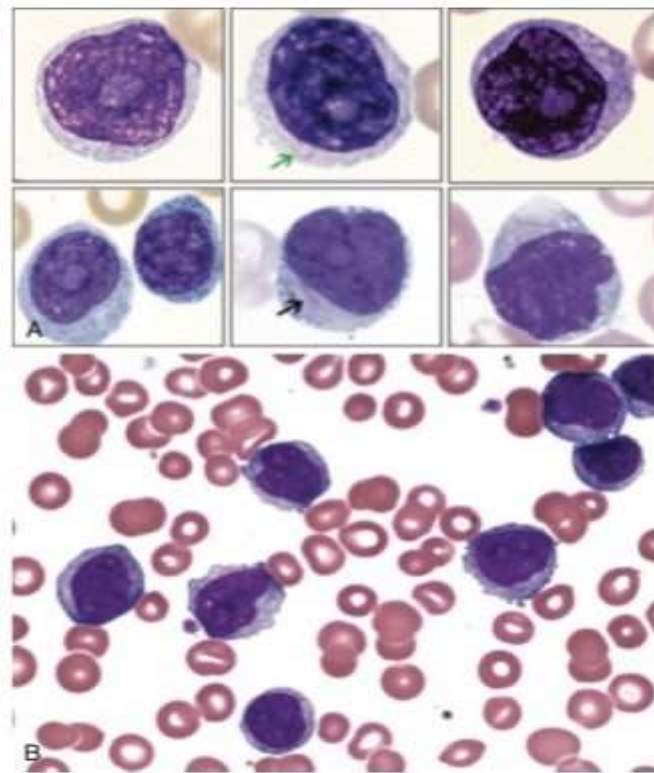


Figure 33: Prolymphocytes dans le frottis sanguin de patients atteints de leucémie prolymphocytaire B (A et B). Certains prolymphocytes montrent des granules cytoplasmiques (A, flèche verte) ou inclusions (A, flèche noire)

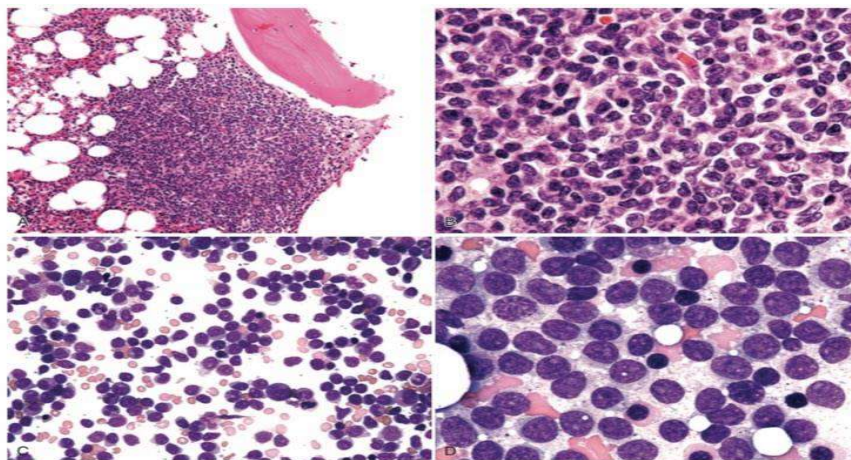


Figure 34: Leucémie prolymphocytaire.

La coupe de moelle osseuse montre un agrégat lymphoïde paratrabéculaire constitué de cellules lymphoïdes moyennes à grandes avec des noyaux irréguliers et un nucléole proéminent (A,

faible puissance ; B, forte puissance). Le Frottis de moelle osseuse montre un grand nombre de prolymphocytes (C, faible puissance ; D, haute puissance)

4-4-2 Immunophénotypage par cytométrie en flux :

Le phénotype membranaire des prolymphocytes B est différent de celui de la LLC et de la LLC/PL mais est similaire à celui des autres Leucémies ou lymphomes à cellules B. Présence d'une prolifération B avec restriction monotypique kappa ou lambda. Les cellules prolymphocytaires malignes expriment des antigènes B Les cellules expriment divers antigènes à forte intensité (CD20, CD22, CD24, CD79b et FMC 7). Ils sont généralement, mais pas toujours, CD23- et CD5- contrairement à la LLC et expriment fortement l'immunoglobuline membranaire de surface (sIgM) qui est IgM ou IgM+/-IgD. Dans un petit nombre de cas testés, sept sur 10 avaient une expression positive de ZAP 70 et CD38. Le score de Matutes utilisé en France, ainsi que le CD20, permettent de distinguer les LLC (score 4 ou 5, CD20 de faible intensité) des LPL-B qui présentent des scores de 0 à 3, avec un CD20 de forte intensité. Enfin, les marqueurs CD25, CD103 et CD125 sont habituellement négatifs, le CD200 faiblement positif ou négatif. Il n'existe donc pas de profil immunophénotypique typique des LPL-B, avec des similarités avec les autres syndromes lymphoprolifératifs B comme les LM, LZM et leucémie à tricholeucocytes variante.⁷⁶

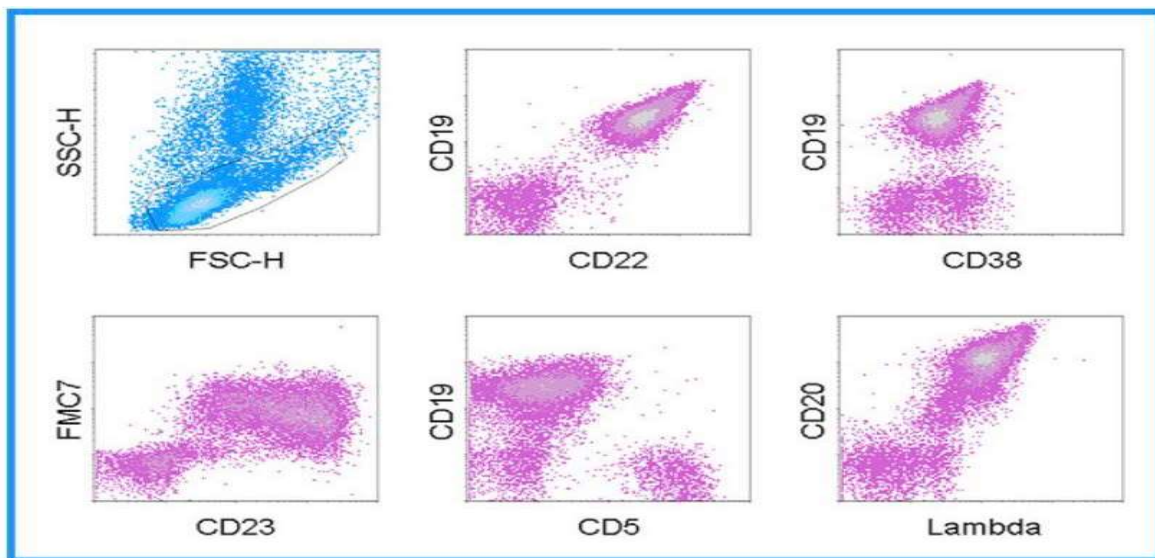


Figure 35: Résultats de cytométrie en flux de leucémie prolymphocytaire B.

Affichage du diagramme de densité de porte ouverte par la porte de dispersion (en bleu) révèle une population proéminente à prédominance lymphocytes de taille intermédiaire. Les tracés de densité de la porte enrichie en lymphoïdes (en violet) montrent des cellules B monotypiques exprimant CD19, CD20 (modéré à brillant), CD22, CD23, FMC7 et surface restriction de la chaîne légère lambda. CD38 est souvent positif dans la PLL, car vu dans ce cas. Les cellules B néoplasiques sont négatives pour CD5 et CD10 (non représenté).

4-4-3 Cytogénétique :

Aucune anomalie chromosomique spécifique n'est décrite dans la LPL-B. Il existe très souvent des caryotypes complexes (avec trois anomalies chromosomiques ou plus, 73 % des cas), voire très complexes (avec cinq anomalies ou plus, 45 % des cas). L'anomalie la plus fréquemment retrouvée (62 % des cas) est une translocation impliquant le gène MYC sur le bras long du chromosome 8⁷⁷, total, un caryotype complexe et des aberrations du gène MYC – incluant translocation, plus rarement gain et amplification, sont observés dans plus de 70 % des cas ; et une délétion du gène TP53. Les mutations du gène p53 observés dans plus de 50 % des cas de B-PLL ; l'incidence est la plus élevée parmi tous les sous-types de tumeurs malignes à cellules B.⁷⁸

4-4-4 Diagnostic différentiel :

Le diagnostic différentiel de B-PLL est établi avec LLC/PL, lymphome de manteau, variante de la leucémie à tricholeucocytes et T-PLL. L'immunophénotypage et la morphologie permettront de distinguer B-PLL de T-PLL et CLL/PL. De plus, l'histologie et la cytogénétique permettent de distinguer les B-PLL, variante de la leucémie à tricholeucocytes et lymphome à cellules du manteau.

Tableau 6: Diagnostic différentiel de B-PLL par immunophénotypage

Immunophenotyping	B-PLL	CLL/PL	HCL Variant	MCL
CD22	+ (strong)	+ (weak)	+	+
CD79b	+	+ (weak)	+/-	+
CD23	-	+	-	-
CD5	- (most)	+	-	+ (most)
Smlg	strong	weak	strong	strong
Other antigens	CD10-	CD10-	CD25-, CD 103 +, CD123-, TRAP -(unlike typical HCL)	Cyclin D1 +

5- LYMPHOME DE MANTEAU :

Le lymphome à cellules de manteau (MCL) a été initialement identifié dans la classification de Kiel comme un « lymphome centrocytaire ». Ce type de lymphome a été appelé lymphome lymphocytaire de différenciation intermédiaire par Bérard. Un sous-type distinct de MCL a été caractérisé par de petites cellules lymphoïdes atypiques avec larges manteaux autour des centres germinatifs bénins et a été appelé lymphome de la zone du manteau. Avec l'avènement des classifications européenne-américaine révisée (REAL) et plus tard de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), le MCL est devenu un sous-type distinct de lymphome et a été qualifié de lymphome agressif, de mauvais pronostic avec une survie moyenne de trois à cinq ans, qui reste essentiellement incurable avec la chimiothérapie conventionnelle. C'est un lymphome non hodgkinien à cellules B, dérivé des cellules internes de la zone du manteau des follicules lymphoïdes, caractérisé par une atteinte des ganglions lymphatiques, de la rate, du sang et de la moelle osseuse, le tube digestif essentiellement dans le côlon ou dans l'estomac (on parle dans ce cas de polypose lymphomateuse), dans 60 % des cas. Avec une courte durée de rémission aux thérapies standard et une survie globale (SG) médiane de 4 à 5 ans. Bien que l'incidence du MCL semble augmenter, il reste une maladie rare. La classification révisée de l'OMS de 2016 des tumeurs malignes à cellules B a identifié deux sous-types dans le lymphome à cellules du manteau : une variante classique et une variante indolente. L'identification de ces variantes est souvent liée à différents caractéristiques cliniques, histologiques, phénotypiques et moléculaires qui ont un impact sur la prise en charge clinique allant de la surveillance et de l'attente à la chimiothérapie agressive.⁷⁹

5-1 Incidence :

Le MCL représente environ 4 % de tous les lymphomes aux États-Unis et 7 à 9 % en Europe. Les patients atteints de MCL ont un âge médian dans la soixantaine la moitié des patients ayant plus de 75 ans. Il touche moins un homme sur 100 000 en France et l'incidence est de 02/100 000 chez la femme. Il s'agit du sous-type d'hémopathies lymphoïdes avec la prédominance masculine la plus marquée.⁸⁰

5-2 Physiopathologie :

5-2-1-pathogénèse :

Le MCL possède généralement la translocation chromosomique caractéristique t(11;14)(q13;q32), qui provoque une expression aberrante du gène CCND1 et une surexpression de la cycline D1 dans les cellules tumorales, entraînant une progression désordonnée du cycle cellulaire et une lymphomagenèse agressive. Bien que des cas de MCL négatifs pour la cycline D1 aient été rapportés, tous ces cas étaient positifs pour la surexpression de la cycline D2 ou D3. De plus, le Sry-related high-mobility-group box SOX11, qui s'exprime dans près de 90 % des cas, a été identifié comme biomarqueur Diagnostic et pronostic du MCL. Les cellules B précurseurs généralement avec mais parfois sans réarrangement CCND1 mûrissent en cellules B naïves anormales qui peuvent initialement coloniser, souvent la partie interne des zones du manteau, représentant l'ISMCN. Ces cellules présentent déjà des anomalies génétiques moléculaires supplémentaires, telles que l'inactivation de mutations ATM. Ils peuvent évoluer vers le MCL classique qui est le plus souvent SOX11+, ne présente aucun signe de transit à travers le centre germinatif et est génétiquement instable, acquérant des anomalies supplémentaires liées au dérèglement du cycle cellulaire, à la voie de réponse aux dommages de l'ADN, à la survie cellulaire et à d'autres voies. En fin de compte, une progression vers un MCL blastoïde ou pléomorphe peut survenir. Une plus petite proportion de cellules du manteau néoplasique peut subir une hypermutation somatique, vraisemblablement dans les centres germinatifs, conduisant à SOX11-MCL qui sont génétiquement plus stables pendant de longues périodes et qui impliquent préférentiellement le PB, la moelle osseuse (BM) et parfois la rate. Même ces MCL, cependant, peuvent subir des anomalies moléculaires/cytogénétiques supplémentaires, en particulier des anomalies de TP53, conduisant à une progression clinique et parfois morphologique.⁸¹

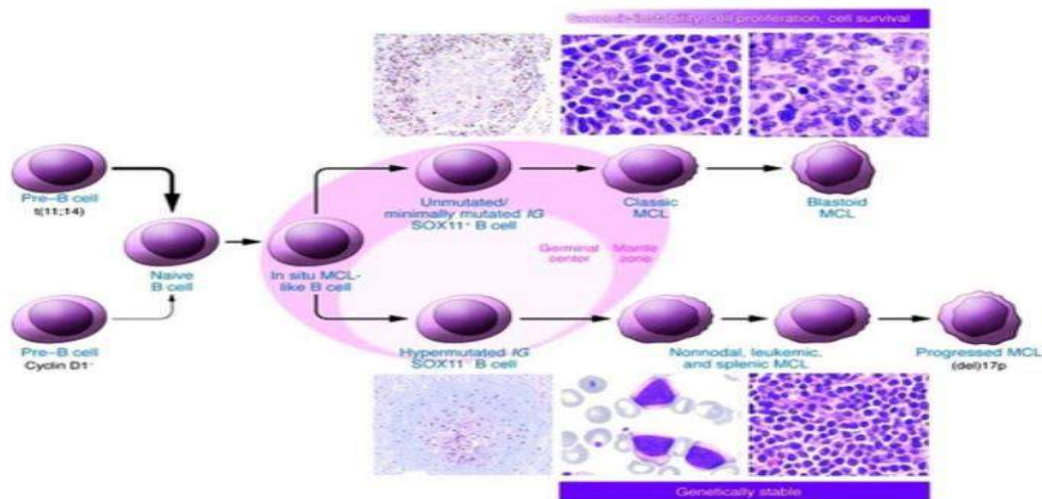


Figure 36: Un modèle proposé de pathogenèse moléculaire et de progression de la MCL

5-2-2 Rôle du BCR :

En raison de la faible fréquence de MCL avec le manque qui en résulte de grandes cohortes et de référentiels d'échantillons de patients, les connaissances actuelles sur les BCR MCL sont plus limitées que dans la LLC, le lymphome folliculaire (LF) ou le DLBCL. Ainsi, les antigènes des BCR MCL ou les mécanismes généraux de leur activation sont très incomplètement compris. Des analyses phosphoprotéiniques ont révélé que les voies de signalisation BCR sont actives dans les cellules MCL et que l'inhibition de molécules clés de ces voies déclenche l'apoptose dans les cellules MCL in vitro. Une signalisation BCR en cours a également été trouvée dans les échantillons de MCL in vivo. De plus, des inhibiteurs de la signalisation BCR comme l'ibrutinib, un inhibiteur de la tyrosine kinase Bruton (BTK), ont montré une efficacité très prometteuse chez les patients atteints de MCL, ce qui suggère en outre un rôle important et continu du BCR dans le MCL. Récemment, des études de profilage de cellules individuelles ont révélé que les cellules MCL présentaient une phosphorylation accrue de plusieurs molécules de la voie BCR, comme AKT et STAT. Le déclenchement de l'activation du BCR a conduit à une très forte signalisation du BCR dans les cellules MCL, mais pas dans la LLC et les cellules B saines, soulignant davantage le rôle prépondérant du BCR dans le MCL. Il convient de noter que les schémas de phosphorylation et la signalisation induite par α -BCR dans le MCL ont

montré une forte variabilité inter-patient et sont inversement corrélés à la sensibilité aux inhibiteurs de BTK et de la rate tyrosine kinase (SYK) dans le MCL.⁸²

5-3 Présentation clinique de la maladie :

Les symptômes spécifiques du lymphome du manteau sont principalement une augmentation du volume d'un ou de plusieurs ganglions lymphatiques (adénopathie), notamment au niveau du cou, des amygdales, des aisselles, de l'aîne et au-dessus des clavicules. Une augmentation de la taille de la rate (splénomégalie) et/ou du foie (hépatomégalie). Les symptômes communs à tous les cancers peuvent aussi apparaître une fièvre persistante, des sueurs nocturnes abondantes ; une perte de poids anormale (elle est présente chez un tiers des patients). Si le tube digestif est affecté, on peut également retrouver : des maux de ventre, des diarrhées, des nausées et des vomissements, et parfois des hémorragies digestives. De nouvelles enquêtes sur des patients diagnostiqués MCL ont démontré que 80% -90% des patients ont une atteinte du tractus gastro-intestinal, souvent asymptomatique. MCL peut également être limité au tissu intestinal pendant des périodes prolongées avant la dissémination de la maladie survient. Cette forme intestinale de MCL, appelé polypose lymphomateuse multiple, se présente sous la forme de polypes multiples ou des masses sous-muqueuses et peuvent provoquer des saignements ou d'autres symptômes gastro-intestinaux.⁸³

5-4 Critères diagnostique :

Le diagnostic est posé sur une biopsie d'un ganglion lymphatique, d'un tissu, d'une moelle osseuse ou d'un phénotype sanguin qui montre la morphologie typique des cellules lymphoïdes monomorphes de petite à moyenne taille avec des contours nucléaires irréguliers. Quatre variantes cytologiques de MCL sont reconnues, y compris la Division d'hématologie/oncologie, Centre médical de l'Université du Nebraska, Omaha, variante à petites cellules du Nebraska, variante de la zone du manteau ; variante diffuse et la variante blastique. L'immunophénotypage est couramment utilisé avec les cellules MCL étant CD201, CD51 et positives pour la cycline D1 tout en étant négatives pour CD10 et Bcl6. La translocation chromosomique caractéristique t (11 :14) (q13 ; 32) identifie le MCL, et peut être montré dans la plupart des cas. Cette translocation conduit à l'expression aberrante de la cycline D1, qui n'est généralement pas exprimée dans les lymphocytes normaux. Quelques cas négatifs pour la cycline D1 ont été identifiés et semblent avoir une surexpression de la cycline D2 ou D3 à la place. La

surexpression du facteur de transcription, SOX11, a été décrite comme un marqueur Diagnostic pour le MCL avec l'absence de SOX11 une caractéristique du MCL indolent. Les caractéristiques biologiques telles qu'un indice de prolifération Ki-67 élevé ou des mutations p53 et des délétions p16 sont étroitement liées aux sous-types de MCL plus agressifs tels que les variantes blastoïde.⁸⁴

5-4-1 Cytologie :

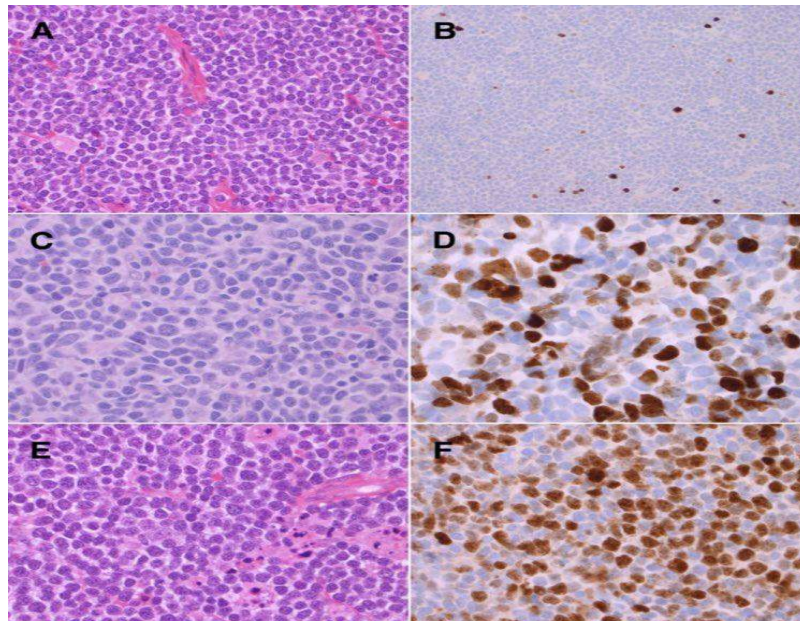


Figure 37: MCL à croissance diffuse.

(A). Les cellules tumorales sont monomorphes avec des noyaux légèrement irréguliers. Vaisseaux hyalinisés et des histiocytes épithélioïdes sont parfois observés. La prolifération des cellules tumorales est faible (B). Variante pléomorphe de MCL (C). La taille et la forme des cellules sont variables et la prolifération des cellules tumorales (coloration MiB1) est élevée (D). MCL blastique (E). La population tumorale est constituée de blastes monomorphes. La prolifération (coloration MiB1) est élevée (F)

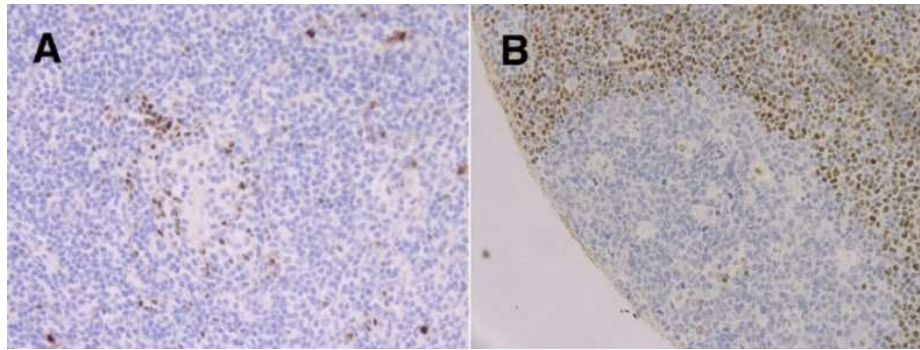


Figure 38: (A) MCL in situ avec quelques lymphocytes positifs à la cycline D1 localisés à proximité d'un petit centre germinatif résiduel. (B) MCL avec modèle de croissance de la zone du manteau. Une zone du manteau proéminente constituée de lymphocytes positifs

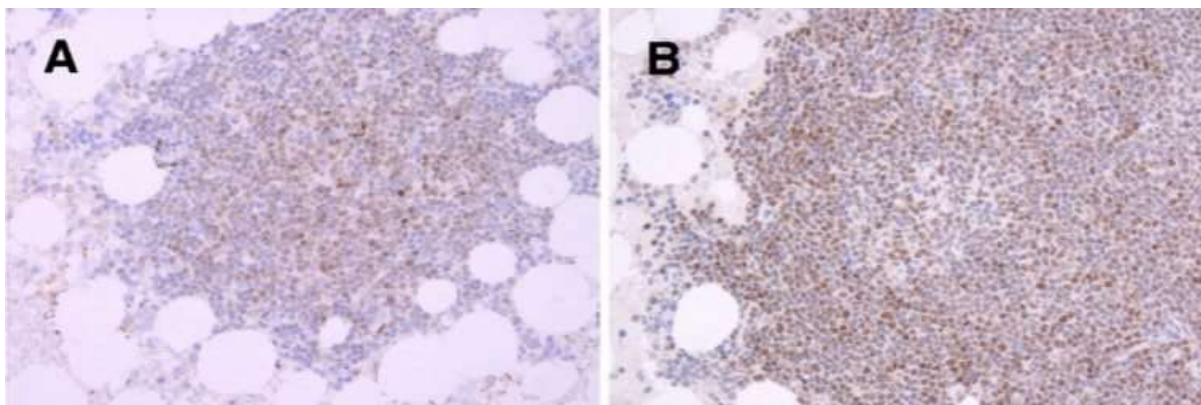


Figure 39: Atteinte de la moelle osseuse du MCL. Les nodules des cellules tumorales sont facilement identifiés par coloration pour la cycline D1 (A) et SOX11 (B)

5-4-2 Immunophénotypage par cytométrie en flux :

L'immunophénotypage par cytométrie en flux joue un rôle important dans le Diagnostic du MCL. En règle générale, les MCL sont positifs pour les antigènes pan-cellules B (CD19, CD20 et CD22) et sont généralement CD5+, CD10-, BCL6-, CD23- et FMC7+. Le LCM est caractérisé, comme la LLC, par l'expression quasi constante du CD5 mais s'en différencie par la négativité du CD23, et du CD200. Cependant, des variations par rapport à l'immunophénotype typique ont été observées, certains qui pourraient induire en erreur et entraîner des difficultés de Diagnostics, en particulier lorsque les caractéristiques morphologiques ne sont pas classiques ou que la pièce de biopsie est petite. Ces cas pourraient être diagnostiqués à tort comme d'autres types de lymphomes à cellules B tels que le lymphome folliculaire ou la leucémie lymphoïde chronique/petit lymphome lymphocytaire (CLL/SLL).

Par conséquent, la reconnaissance de la variabilité de l'immunophénotype dans le MCL est importante pour le bilan Diagnostic des patients atteints de lymphome. En raison de la présence de phénotypes variables de MCL, il n'y a pas consensus sur la sélection de marqueurs spécifiques. Par exemple, on peut trouver des patients MCL CD5+/CD10- ainsi que des patients MCL CD5+/CD10+. De plus, il peut y avoir des patients CD5-/CD10-. De la même manière, le marqueur FMC7, qui est considéré comme important dans le diagnostic du MCL, peut être négatif chez certains patients MCL. Dans la littérature, il y a des patients CD5- (10-3%). Généralement, les MCL sont CD23-/FMC7+, tandis que les CLL/SLL sont généralement CD23+/FMC7-. Cependant, de plus en plus de preuves indiquent qu'il existe un chevauchement substantiel dans le modèle d'expression de CD23 entre les 2 entités. La fréquence rapportée de l'expression de CD23 dans le MCL est variable dans la littérature, de 0 % à 45 %.⁸⁵

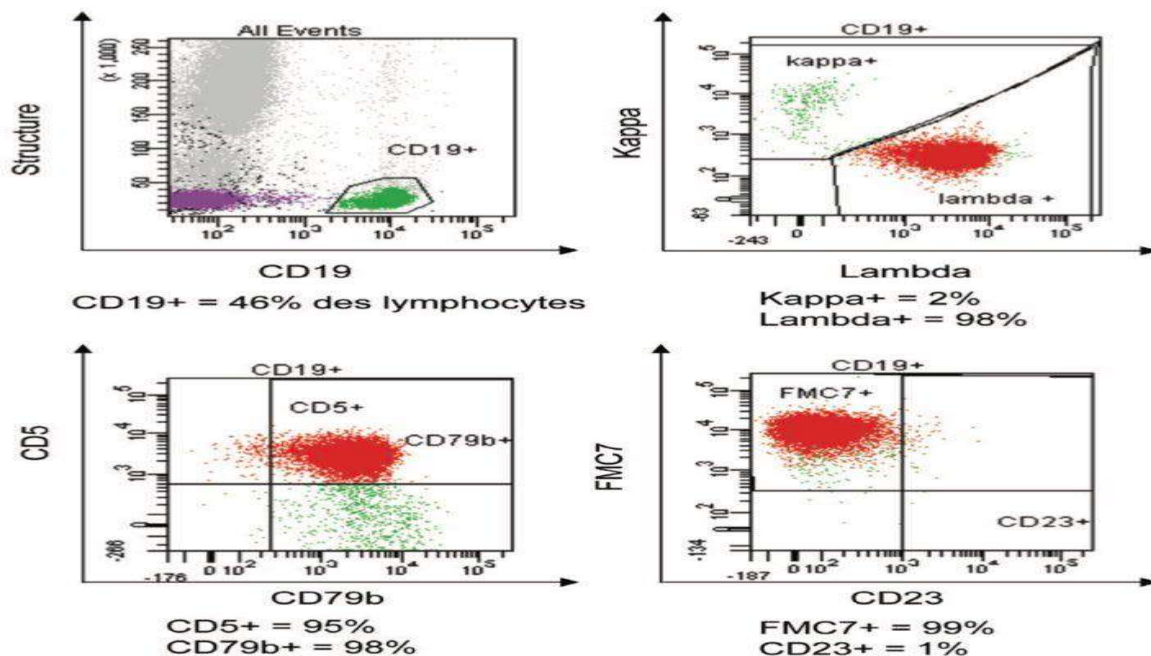


Figure 40: Les cellules lymphomateuses B apparaissant en rouge sont monotypiques lambda de forte intensité, CD5+, CD79+, FMC7+, CD23-. Ce phénotype est compatible avec le diagnostic de lymphome du manteau.

6-LYMPHOMES DE LA ZONE MARGINALE (LZM) :

En 2008, la classification de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) des hémopathies malignes a entériné l'existence de trois entités, en fonction du siège de l'atteinte : les LZM extraganglionnaires (LZME) type MALT, les LZM spléniques (LZMS) et les LZM

ganglionnaires (LZMG), complétée, en 2016, avec la lymphocytose B monoclonale de type MZL, et le lymphome de la pulpe rouge ou autres formes frontières. Les MZL sont des lymphomes indolents rares, avec des stratégies de traitement distinctes.

6-1-Incidence :

Les LZM sont des lymphomes dont le taux d'incidence est de 2 790 nouveaux cas en France en 2018, 1457 chez l'homme et 1333 chez la femme, marquant une prédominance masculine. Leur taux d'incidence standardisé sur la population mondiale est de 2,3 et 1,7/100 000 personnes années.⁸⁶ L'âge médian est de 69 ans chez l'homme, 72 ans chez la femme et l'incidence augmente régulièrement avec l'âge. Le lymphome du MALT est le MZL le plus fréquent, représentant 5 à 8% de tous les lymphomes à cellules B et 70% des MZL.⁸⁷

6-2- Physiopathologie :

On pense que les MZL dérivent des cellules B de la zone marginale, la partie externe des follicules lymphoïdes secondaires. La zone marginale est plus évidente dans les tissus lymphatiques exposés en permanence à des antigènes externes, tels que les ganglions lymphatiques mésentériques, le MALT et la rate. Les Cellules B de la zone marginale agissent comme des lymphocytes innés capables de déclencher rapidement des anticorps réponses à la fois aux antigènes dépendantes et indépendantes des cellules T. Les trois MZL partagent clairement des lésions communes, mais ils présentent également des altérations spécifiques qui peuvent être utilisé pour leur diagnostic différentiel. Les trisomies des chromosomes 3 et 18 et les délétions en 6q23 sont fréquentes événements dans tous les MZL, ainsi que des mutations somatiques des gènes codant pour des protéines impliquées dans le remodelage de la chromatine. L'activation de la voie du facteur nucléaire kappa B (NF-κB) est également commun aux trois entités, généralement via des mutations somatiques ou suppressions (ou les deux) de TNFAIP3 (A20) en 6q23. Des mutations affectant la voie NOTCH et le facteur de transcription KLF2 sont présentes à la fois dans SMZL et NMZL. Alors que SMZL est spécifiquement caractérisé par des suppressions de chromosome 7q, MZLG montre l'inactivation de PTPRD et une prévalence beaucoup plus élevée de mutations affectant KMT2D (MLL2). Contrairement à la grande majorité des autres lymphomes B, SMZL et MZLG ne présentent pas de récurrence spécifique translocations chromosomiques, alors que

celles-ci sont détectées dans le MALT, dans lesquels au moins trois d'entre eux activent la voie NF- κ B.⁸⁸

- Rôle de la signalisation NF- κ B, signalisation NOTCH, KLF2 et PTPRD :

La signalisation NF- κ B active est nécessaire pour la génération et le maintien des cellules B normales de la zone marginale, ce qui nécessite une faible signalisation des récepteurs des cellules B (BCR) (par exemple, déclenchée par auto-antigènes et conduisant à l'activation de la voie NF- κ B canonique) ou à la signalisation CD40, activant la NF- κ B non canonique. Dans tous les MZL, la signalisation NF- κ B canonique et la signalisation NF- κ B non canonique est dérégulée par des événements génétiques. L'événement le plus fréquent est l'inactivation, par délétions ou mutations, de son régulateur négatif codé par le TNFAIP3 (A20). Trois autres composants de signalisation NF- κ B MALT1, BCL10 et BIRC3—sont impliqués dans les trois translocations les plus récurrentes du lymphome du MALT : le t(11 ;18)(q21;q21), le t(14;18)(q32;q21), et le (1;14)(p22;q32). De même que pour la signalisation NF- κ B⁸⁹, l'activation NOTCH est importante pour la différenciation de la zone marginale et le homing des cellules B vers la zone marginale splénique. Le gène NOTCH2 est muté dans 10 à 25 % des SMZL, dans environ 25 % des NMZL et dans moins plus de 5% des lymphomes du MALT. NOTCH1 est également muté dans environ 5% des SMZL mais pas du tout ou à un taux beaucoup plus bas fréquence dans les lymphomes NMZL et MALT. Régulateurs négatifs de la signalisation NOTCH sont également mutés, bien qu'à une fréquence plus faible, amenant l'activation NOTCH par des événements génétiques à 40% des SMZL et NMZL⁹⁰. KLF2 est un facteur de transcription ; les souris avec une délétion spécifique KLF2 ont un nombre accru de cellules B de la zone marginale splénique. Les mutations inactivatrices du gène KLF2 sont très fréquentes chez SMZL (20-40%) et NMZL (20% des cas)⁹¹. PTPRD est une protéine tyrosine phosphatase de type récepteur exprimé dans les cellules B du centre germinatif normal et, à des niveaux inférieurs, dans les cellules B de la zone marginale. Presque exclusivement en MZLG, le PTPRD est inactivé par des mutations ou des délétions dans environ 20 % des cas. Les cas de MZLG avec PTPRD muté semblent avoir une augmentation prolifération cellulaire, indiquant une implication du PTPRD dans la prolifération cellulaire.⁹²

- Stimulation antigénique

Il existe de nombreuses preuves soutenant l'idée que la stimulation antigénique est importante pour le développement et la progression des MZL. Le lymphome du MALT provient de cellules B au sein de populations de cellules immunitaires induites par une inflammation chronique prenant place dans des sites extraganglionnaires dans des organes physiologiquement dépourvus de centres germinatifs. Le site le plus fréquent du lymphome du MALT est l'estomac, où la maladie a été très clairement associée à la gastrite chronique induite par *Helicobacter pylori*⁹³. Les lymphomes du MALT survenant dans d'autres sites anatomiques ont également été associée à d'autres agents infectieux (*Clamydophila psittaci* dans l'annexe orbitaire du lymphome du MALT, *Borrelia burgdorferi* dans le MALT cutané, *Campylobacter jejuni* dans la maladie immuno-proliférative de l'intestin grêle⁹⁴, *Achromobacter xylosoxidans* dans le lymphome pulmonaire du MALT et le virus de l'hépatite C (VHC) dans tous les MZL)⁹⁵, bien que le lien étiologique n'est pas aussi fort que pour la localisation gastrique et *H. pylori*. Au-delà de l'infection, les inflammations chroniques dans le cadre de maladies auto-immunes, telles que le syndrome de Sjögren ou la thyroïdite de Hashimoto, sont fortement associées au développement de lymphomes du MALT affectant les glandes salivaires et thyroïde, respectivement. Outre la stimulation antigénique continue, les événements oncogènes, tels que ceux présentés ci-dessus, contribuent à la croissance et à la progression du lymphome jusqu'au développement d'une tumeur franche indépendante de la pulsion antigénique. Les MZL présentent des gènes d'immunoglobulines variables lourdes (IGHV) somatiquement mutés dans presque tous les cas avec un modèle d'hypermutation et réarrangements révélateurs d'une sélection antigénique. La présence des mutations (variation intra clonale) et l'utilisation biaisée de certains segments IGHV indiquent que l'expansion des cellules de lymphome pourrait encore être induite par l'antigène.⁹⁶

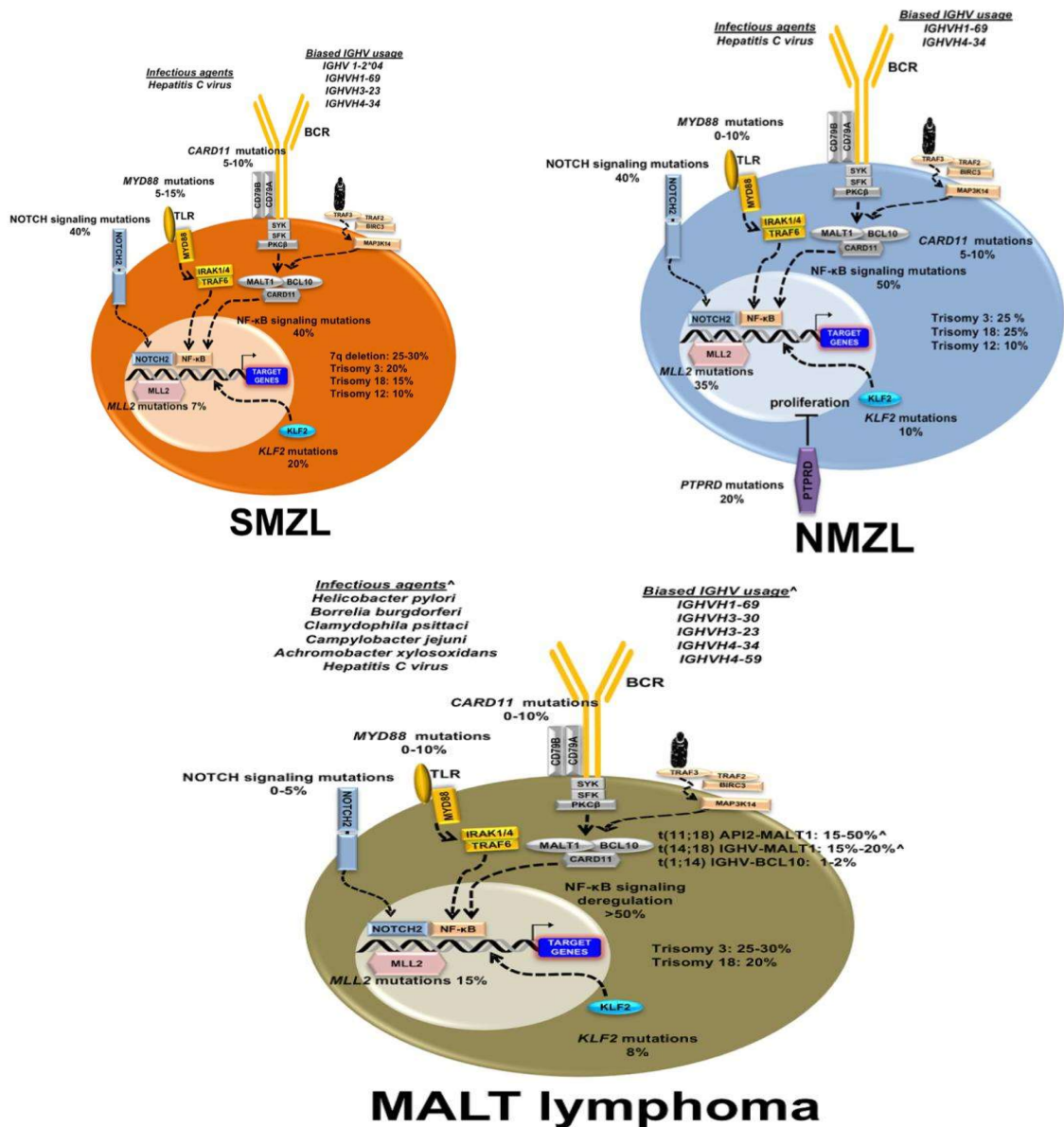


Figure 41: Résumé des principales caractéristiques génétiques et biologiques caractérisant les lymphomes de la zone marginale.

	LZMG	LZMS	LZME
Incidence (pourcentage au sein des LMNH)	1.5-1.8 %	1-1.5 %	5-7 %
Localisation	Ganglionnaire	Splénique	Extra-ganglionnaire : gastrique, oculaire, thyroïdienne, pulmonaire...
Dissémination sanguine	Rare	Fréquente	Rare
Génétique	+3, +18, del(6)q	del(7)q, +3, +18.	t(11;18)(q21;q21), t(1;14)(p22;q32), t(14;18)(q32;q21), t(3;14)(p14.1;q32)
	IGVH3 et IGVH4	IGVH1-2*04	
	Mutation de Notch2, KLF2, CARD11, MYD88, IKKB, TNFAIP3, BIRC3, TRAF3	Mutation de Notch2, KLF2	Mutation de Notch2, KLF2, TNFAIP3

Figure 42: Spécificités de chacun des sous types du lymphome de la zone marginale

6-3 Présentation clinique :

- Lymphome de la zone marginale Extraganglionnaire (LZME) :

EMZL se produit souvent dans les organes dépourvus de tissu lymphoïde proéminents, où à la suite d'une inflammation chronique, l'excroissance d'un clone malin remplace progressivement la population lymphocytaire réactive. Quel que soit le site d'origine, EMZL se caractérise par une présentation et un parcours indolents, survenant principalement chez les adultes avec un âge médian de 60 ans. Les la présentation clinique diffère selon l'organe concerné. Les patients atteints d'EMZL gastrique présentent souvent des symptômes qui imitent ceux de l'ulcère gastroduodéal ou de la gastrite (nausées, dyspepsie et fatigue chronique), tandis que des infections respiratoires récurrentes, des douleurs thoraciques et une dyspnée sont observées chez les patients atteints d'EMZL pulmonaire. Les patients atteints d'EMZL conjonctival peuvent présenter une vision floue ou d'autres défauts du champ visuel. La majorité des patients atteints d'EMZL présentent un stade I localisé ou II maladie extraganglionnaire (système de stadification Ann Arbor), impliquant tissus épithéliaux à des sites spécifiques, y compris le tube digestif. Dans environ 30% des cas, ces lymphomes disséminent vers d'autres sites du MALT, principalement les ganglions lymphatiques et dans de rares cas à la moelle osseuse, mais le sang périphérique n'est généralement pas impliqué. Le devenir des patients atteints d'EMZL est bon

avec une survie globale à 5 ans entre 86 et 95%, sans aucune différence significative entre le site de l'EMZL, maladie localisée ou disséminée.⁹⁷

- Lymphome de la zone marginale ganglionnaire (LZMG) :

Les patients atteints de LZMG ont fondamentalement la même présentation clinique que les lymphomes ganglionnaires intra dolents tels que les petits lymphomes lymphocytaires et folliculaires. La grande majorité des cas présente un stade avancé qui est généralement peu volumineux. La maladie est initialement localisée dans les ganglions lymphatiques périphériques, le plus souvent dans la région cervicale. Une atteinte du sang périphérique n'est observée que chez une faible proportion de patients, tandis qu'une infiltration de cellules MZL peut être trouvée dans la moelle osseuse dans environ un tiers des cas. Une association avec une maladie auto-immune a été rapportée, ainsi qu'une coexistence avec d'autres entités rares comme la maladie de Rosai Dorfman, caractérisée par une lymphadénopathie géante et une histiocytose sinusale en histopathologie. Certains troubles impliquant « l'activation des cellules B » ainsi que le lupus érythémateux disséminé (LED) ont été associés au LZMG. Ces maladies activant les lymphocytes B comprenaient la thyroïdite de Hashimoto, l'anémie hémolytique, la myasthénie grave, l'anémie pernicieuse, la polyarthrite rhumatoïde. Des études ont également identifié une association entre le VHC et les lymphomes LZMG, y compris LZMG. Il est en effet possible que cette association puisse également dépendre de contextes géographiques et/ou génétiques. Des taux élevés de LDH (lactate déshydrogénase) indiquent un pronostic moins favorable. À cet égard, la transformation en lymphome diffus à grandes cellules B a également été décrite dans le LZMG et peut survenir chez 15 % des patients après une médiane de 4,5 ans après le diagnostic. En termes de résultat et de survie : le résultat clinique des patients LZMG est semblable à celui des autres lymphomes nodaux indolents. La survie moyenne à 5 ans dans les séries publiées est de 62 à 90 %.⁹⁸

- Lymphome de la zone marginale splénique (LZMS) :

L'âge médian au diagnostic est d'environ 65 ans, allant de 30 à 90 ans, avec une légère prédominance féminine rapportée dans certaines séries. La plupart des patients sont asymptomatiques et la maladie évolue plus fréquemment de manière indolente. La splénomégalie est le signe clinique le plus fréquent, observé chez 75 % des patients ; tandis que l'anémie, la thrombocytopenie ou la leucocytose ont été rapportées dans 25 % des cas. L'anémie

hémolytique et d'autres troubles auto-immuns sont retrouvés chez 10 % à 15 % des patients. LZMS n'est pas détecté accidentellement lors d'un examen de routine, et certains cas pourraient ainsi se produire une lymphocytose B monoclonale avec une zone marginale, une condition qui pourrait précéder ces cas de LZMS. Presque sans exception, LZMS implique la moelle osseuse au moment du diagnostic, et environ un tiers des patients ont une atteinte hépatique. L'atteinte tumorale du sang périphérique (définie par la présence d'une lymphocytose absolue ou > 5 % de lymphocyte néoplasique dans le sang périphérique) a été détectée dans 68 % des cas par le groupe de Chacon et dans 57 % par Berger et ses collaborateurs. Une lymphadénopathie abdominale a été observée dans 25 % ; une lymphadénopathie périphérique a été observée plus rarement (17 %). En raison de la fréquence élevée d'atteinte médullaire ou hépatique, la plupart des patients sont au stade IV d'Ann Arbor au moment du diagnostic. La paraprotéïnémie sérique (généralement IgM) est évidente dans 10 % et 28 % des cas. Le taux de survie dans le LZMS dépend fortement du stade clinique au moment du diagnostic et du traitement reçu, variant de 42 à 95 % de probabilités de survie à 10ans.⁹⁹

6-4-Critères de Diagnostic :

- **Lymphome de la zone marginal ganglionnaire :**

- Morphologie :

Les caractéristiques morphologiques du LZMG sont très hétérogènes, à la fois en termes d'architecture et de cytologie. Différents modèles d'infiltration ganglionnaire ont été rapportés interfolliculaire, périnusoïdale, folliculaire via la colonisation de follicules réactifs (moins fréquent que dans les lymphomes du MALT, ou diffuse. Une combinaison de différents modèles dans un seul cas est une constatation courante. L'évolution morphologique de la maladie pourrait être décrite comme un schéma périfolliculaire caractérisé par un élargissement de la zone marginale ; suivi d'une expansion dans les zones interfolliculaire, d'une colonisation folliculaire et de la formation de gros nodules ; et se terminant, dans les cas avancés, par un effacement total de l'architecture ganglionnaire et un motif diffus. Des follicules atrophiques résiduels, qui sont rarement hyperplasiques, sont généralement observés. Contrairement au MZL splénique, peu de données sur l'histologie de la moelle osseuse sont disponibles pour le LZMG. Un motif nodulaire et interstitiel a été rapporté. La localisation sinusoïdale qui est plus typique du MZL splénique est également fréquemment décrite dans le LZMG. Comme dans le

MZL splénique, l'histologie semble être plus sensible que la cytométrie en flux pour la détection de l'infiltration médullaire. Il a une morphologie et une présentation clinique distinctes avec un avec une évolution clinique indolente typique mais un pronostic global bien meilleur que le LZMG chez les adultes. Dans les ganglions lymphatiques affectés, les cellules du lymphome ont une distribution principalement interfolliculaire, avec une expansion marquée du LZMG. La composante alvéolaire est similaire à celle de la forme classique mais avec peu de grosses alvéoles. Un trait caractéristique est l'expansion folliculaire avec transformation progressive des centres germinatifs (« variante florale de NMZL »). Une colonisation folliculaire est également observée. La plupart des cas présentent un site ganglionnaire isolé de la maladie de stade I et se portent bien avec une approche conservatrice après une simple excision de la masse ganglionnaire.

Il est particulièrement difficile de faire la différence entre le LZMG pédiatrique et l'hyperplasie atypique de la zone marginale.¹⁰⁰

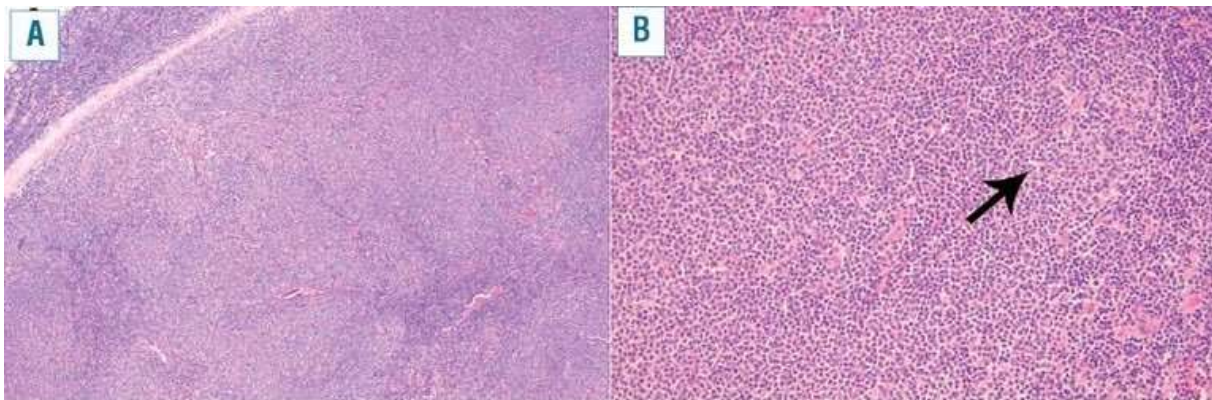


Figure 43: Histologie du LZMG (NMZL) : Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine, montrant une architecture nodulaire à faible puissance (A), avec des follicules résiduels reconnaissables à une puissance plus élevée (flèche) (B)

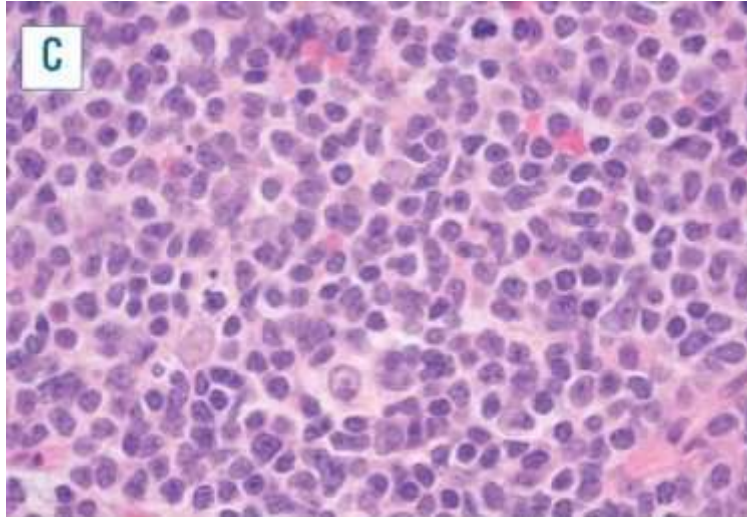


Figure 44: Histologie du LZMG les cellules du lymphome sont constituées de petites cellules avec peu de cytoplasme et de noyaux ronds à indentés avec une structure de chromatine fine (lymphocytaire/centrocytique) (C)

➤ Caractéristiques cytogénétiques et moléculaires :

La cytogénétique peut aider à reconnaître la maladie (principalement en excluant d'autres lymphomes à petites cellules B) ; cependant, les données restent rares dans la littérature, et il a été difficile d'établir un profil cytogénétique caractéristique pour LZMG. Des aberrations clonales sont retrouvées dans la majorité des cas, et le caryotype est le plus souvent complexe. Des anomalies clonales récurrentes également trouvées dans les autres types de MZL, notamment la trisomie 3, la trisomie 18, la trisomie 7, la trisomie 12 et le del6q, peuvent contribuer au diagnostic. La présence de trisomie 12 pourrait éventuellement être plus fréquente dans le LZMG que dans le lymphome du MALT ou le MZL splénique. Les translocations caractéristiques du MALT ou les délétions 7q récurrentes dans le MZL splénique n'ont pas été rapportées dans le LZMG. De rares cas (moins de 10 %) avec des délétions hétérozygotes sur le gène TP53 détectées par hybridation in situ en fluorescence (FISH) ont été rapportés.¹⁰¹

Immunophénotypage par cytométrie en flux :

Les cellules tumorales sont CD19+ CD20+, CD22+, PAX5 +, CD5- (Une expression de CD5 est toutefois observée dans 17 % des NMZL), CD10-, Bcl2+, Bcl6-, CD23-, CD43+ (50%), CD79a+, cycline D1-, IgD+ (50%), bien que la plupart des NMZL ont des caractéristiques morphologiques et phénotypiques similaires aux ganglions lymphatiques infiltrés par un

lymphome de type MALT. L'immunoglobuline D (IgD) est généralement négative, mais peut être exprimée dans certains cas, mimant ainsi un MZL splénique et représentant un sous type de NMZL. Le manque de spécificité des marqueurs immunohistochimiques utilisés en routine a mené à la recherche de nouveaux marqueurs plus performants pour le diagnostic du NMZL ; MNDA (myeloid cell nuclear differentiation antigen) est exprimé dans 75 % des cas, ainsi que IRTA-1 (Immune receptor translocation-associated protein1) qui est exprimé dans 73 % des NMZL. IRTA-1 est également appelé Fc receptor-Like 4 factor (FCRL4), ce marqueur est non spécifique du NMZL, puisqu'il est exprimé dans 70 à 90 % des MZL de type Malt. Les cas présentent des caractéristiques immunophénotypiques et moléculaires similaires à celles rapportées pour les cellules B monocytoïdes (cellules B vierges avec un profil Bcl2-, p21+, cycline E+, IRTA1+) suggérant que l'immunophénotype des cellules B monocytoïdes pourrait refléter une étape particulière d'activation. Il n'existe pas de marqueur spécifique de ce lymphome, ainsi son diagnostic est un diagnostic d'élimination et nécessite une intégration rigoureuse des éléments cliniques, morphologiques, immunohistochimiques et moléculaires.¹⁰²

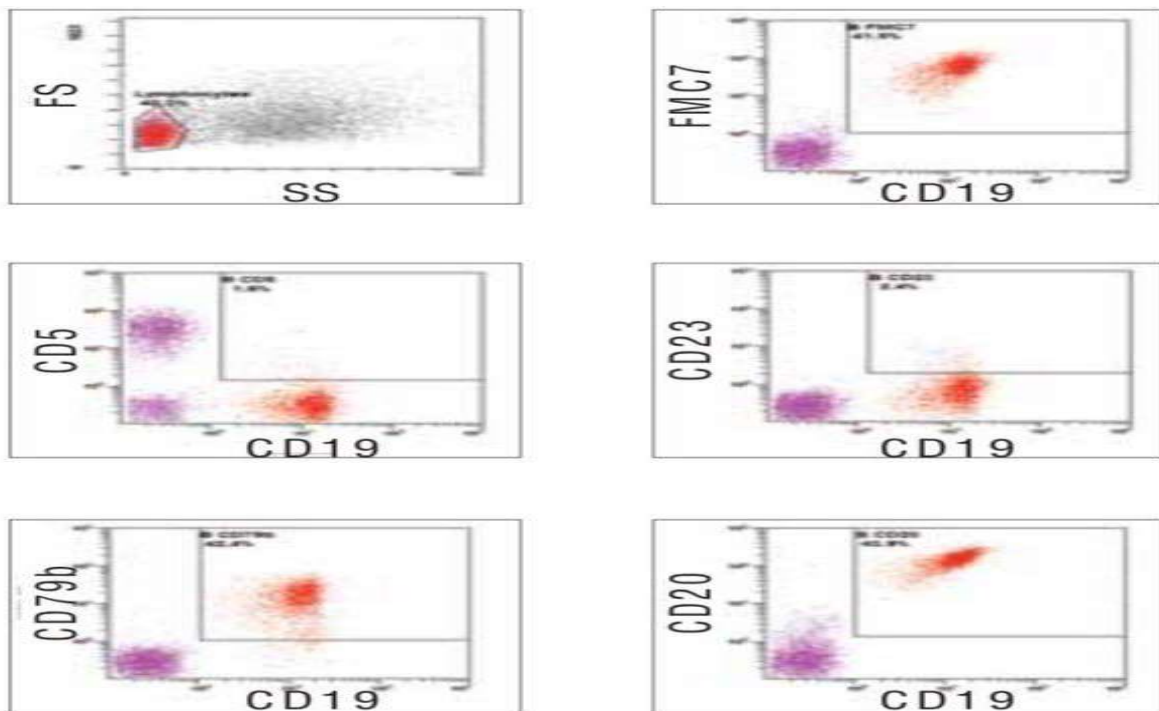


Figure 45: Phénotype compatible avec le Diagnostic du lymphome de la zone marginale.

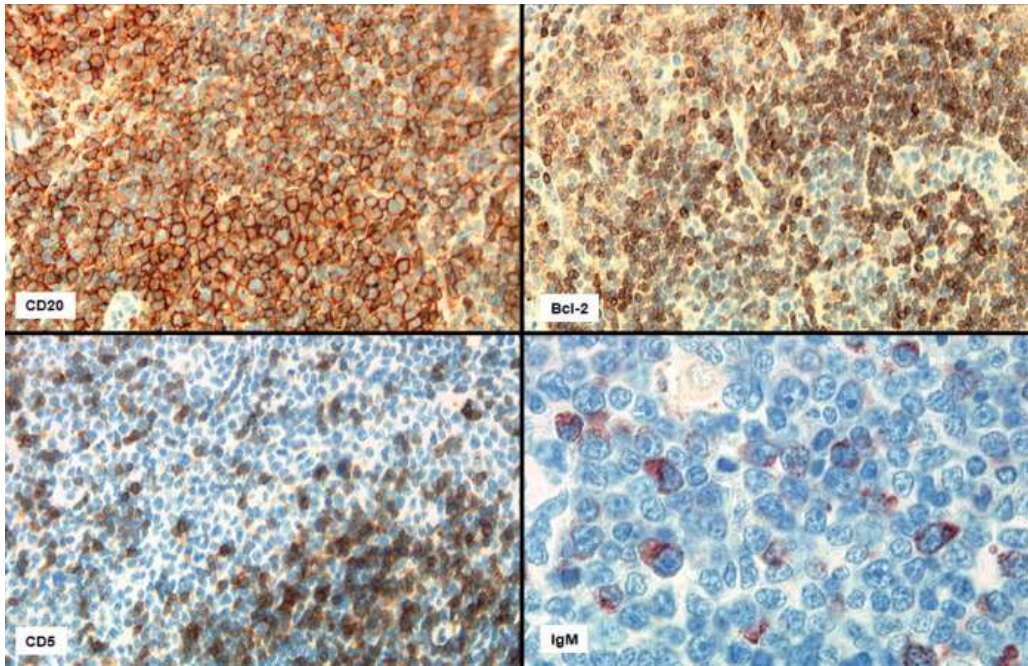


Figure 46: Les cellules tumorales expriment CD20, BCL2 (centre germinatif BCL2 négatif en partie colonisé) n'expriment pas CD5 et expriment une IgM intracytoplasmique

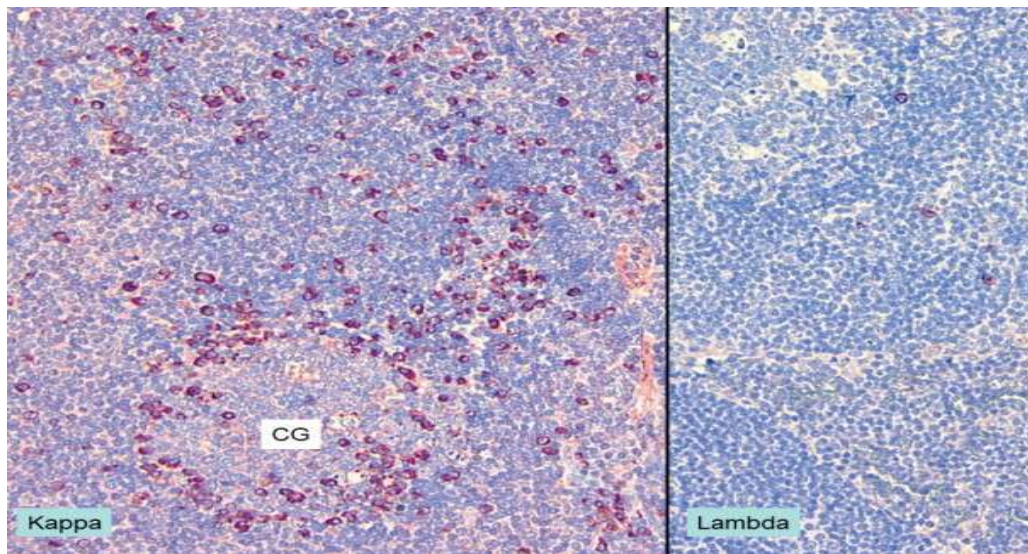


Figure 47: La population marginale à différenciation plasmocytaire Kappa colonise en partie le centre germinatif (CG).

➤ Diagnostic différentiel :

La différenciation entre le LZMG et les autres lymphomes à petites cellules B peut être difficile, puisque ces derniers présentent parfois un motif de zone marginale ou contiennent des cellules B monocytoïdes. Le diagnostic du LZMG implique l'exclusion de l'atteinte ganglionnaire associée à un lymphome à cellules B extraganglionnaire ou splénique de la zone marginale. Par exemple, la morphologie monocytoïdes prédominante oriente plutôt vers un lymphome extraganglionnaire de la zone marginale du Malt. De plus, le LZME a fréquemment des translocations spécifiques impliquant BCL10 et MALT1, qui n'ont pas été rapportées dans le LZMG. Le lymphome de la zone marginale splénique ne présente que très rarement une atteinte ganglionnaire et exprime le plus souvent IgD, qui reste rarement exprimé dans les NMZL. Bien que l'élimination du lymphome à cellules du manteau ou de la leucémie lymphoïde chronique puisse parfois être difficile sur la base de l'analyse cytologique des frottis sanguins périphériques, ces entités peuvent être éliminées sur la base d'un phénotype spécifique et de la présence d'anomalies chromosomiques caractéristiques.¹⁰³

- **Le LZMG pédiatrique :**²

Dans la classification la plus récente de l'OMS des tumeurs des tissus hématologiques et lymphoïdes, le « LZMG pédiatrique » est décrit comme une variante distincte. Chez les enfants, une prédominance masculine est observée et la plupart des cas sont asymptomatiques avec une maladie localisée (stade I), des taux de rechute faibles et un excellent résultat. De plus, il y a moins d'aberrations génétiques que dans le LZMG adulte. Le registre du groupe d'oncologie des enfants pour les lymphomes non hodgkiniens rares et cutanés (LNH) a rapporté que, quelles que soient les différentes approches thérapeutiques utilisées (observation seule, résection chirurgicale, chimiothérapie, radiothérapie, stéroïdes, antibiotiques et rituximab), la survie globale reste de 100 %. Ce qui suggère que le MZL en général ainsi que le LZMG sont curables chez les enfants. Le LZMG pédiatrique présente un réarrangement clonal des gènes IG et des aberrations génétiques numériques similaires à celles observées chez les adultes. Par conséquent, la physiopathologie du LZMG pédiatrique reste mal comprise. Dans les ganglions lymphatiques affectés, les cellules du lymphome ont une distribution principalement interfolliculaire, avec une expansion marquée du MZL. La composante alvéolaire est similaire à celle de la forme classique mais avec peu de grosses alvéoles. Un trait caractéristique est

l'expansion folliculaire avec transformation progressive des centres germinatifs (« variante florale de LZMG »). Une colonisation folliculaire est également observée. La plupart des cas présentent un site ganglionnaire isolé de la maladie de stade I et se portent bien avec une approche conservatrice après une simple excision de la masse ganglionnaire. Il est particulièrement difficile de faire la différence entre le LZMG pédiatrique et l'hyperplasie atypique de la zone marginale. Le LZMG pédiatrique présente un réarrangement clonal des gènes IG et des aberrations génétiques numériques similaires à celles observées chez les adultes. Par conséquent, la physiopathologie du LZMG pédiatrique reste mal comprise¹⁰⁴

- **Lymphome de la zone marginal splénique :**

- Morphologie :

Lorsque la rate est enlevée pour le diagnostic ou le traitement de LZMS, l'histologie splénique est caractérisée par un infiltrat lymphoïde intranodulaire dans lequel les follicules pulpaires blancs sont augmentés à la fois en taille et en nombre, fréquemment associé à une variable degré d'atteinte pulpaire rouge. Les follicules ont généralement un aspect biphasique, avec la présence à la fois d'une petite cellule et d'un composant cellulaire marginal. Les cellules au centre des follicules sont de petits lymphocytes avec des noyaux généralement ronds et peu de cytoplasme tandis que les cellules dans les zones marginales ont des contours nucléaires irréguliers et un cytoplasme pâle modérément abondant. De plus, la plupart des cas contiennent de grandes cellules B dispersées ressemblant à des centroblastes ou des immunoblastes qui peuvent également apparaître dans la zone marginale et la pulpe rouge. De manière caractéristique, l'infiltration tumorale par LZMS s'accompagne de la formation de follicules lymphoïdes réactifs, dans la rate, les ganglions lymphatiques ou de la moelle osseuse, reflétant ainsi la capacité des cellules B de la zone marginale à induire le développement du centre germinatif via transport de complexes immuns vers les cellules dendritiques folliculaires.¹⁰⁵

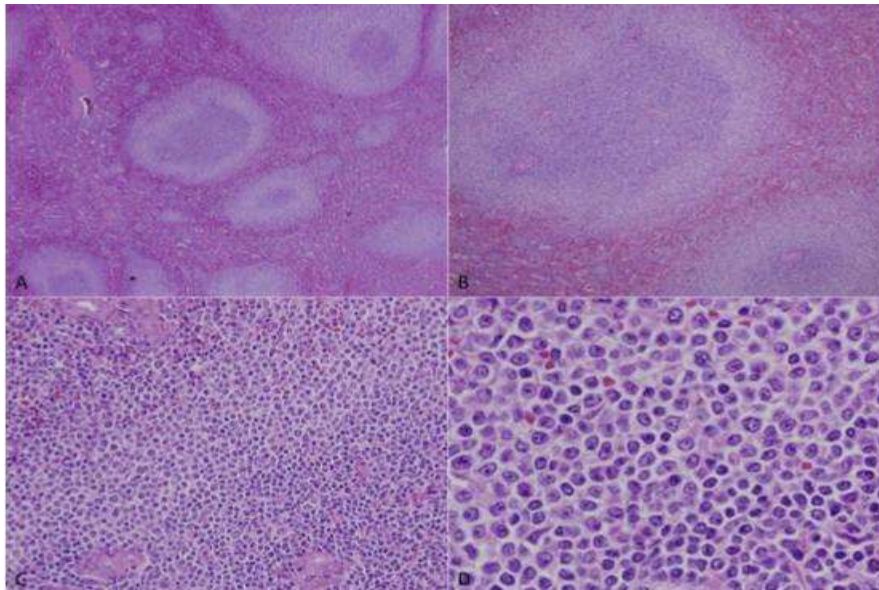


Figure 48: Morphologie du lymphome de la zone marginale splénique dans la rate.

A, Un faible grossissement montre une différenciation de la zone marginale et une cytologie biphasique, avec des cellules pâles dans la zone marginale, des cellules plus foncées à l'intérieur du follicule et des zones centrales pâles occasionnelles, indiquant des centres germinatifs remplacés. B, C, Remplacement des follicules lymphoïdes par des cellules néoplasiques. D, Fort grossissement de la cytologie biphasique, caractéristique de l'infiltration splénique par LZMS.

➤ Caractéristiques cytogénétiques et moléculaires :

Jusqu'à récemment, aucune altération génétique caractéristique n'avait été décrite pour cette entité, rendant le diagnostic de LZMS difficile dans certains cas. L'analyse de la région chromosomique 7q22-36 pour la perte d'hétérozygotie et le caryotypage a démontré une perte allélique dans jusqu'à 45 % des cas, une fréquence plus élevée que celle observée dans d'autres néoplasmes à cellules B (8 %). Une région supprimée minimale commune a été mappée sur une région de 3 Mb à 7q32. Ces résultats fournissent un marqueur cytogénétique pour ce néoplasme, qui peut être utilisé en conjonction avec d'autres caractéristiques morphologiques, phénotypiques et cliniques. Il a été démontré que cette région contient des gènes potentiellement pertinents et un groupe de micro ARN. D'autres anomalies chromosomiques clonales détectées dans LZMS incluent ; le gain de 3q (10%e20%) et implication des chromosomes 1, 8 et 14 : les

translocations t [11,14] (q13 ; q32) ou t [14,18] (q21 ; q32) ne sont pas observées. Des anomalies cytogénétiques occasionnelles impliquant 14q32, telles que t [6,14] (p12 ; q32) et t [10,14] (q2 ; q32), ou 7q21 avec dérégulation de la kinase cycline-dépendante ont été rapportées. La suppression de 17p13 (p53) a été observée dans 3%e17% des cas. Le séquençage de l'ensemble de l'exome dans le lymphome de la zone marginale splénique révèle des mutations dans les gènes impliqués dans la différenciation de la zone marginale NOTCH2, KLF2 et autres, fournissant une base biologique pour l'observation morphologique d'une différenciation de la zone marginale proéminente. La mutation MYD88 L265P peut être trouvée dans des cas LZMS par ailleurs typiques sans paraprotéinémie monoclonale ; néanmoins, les cas LZMS avec la mutation MYD88 doivent être recherchés pour la présence de paraprotéine sérique et d'autres résultats suggérant un lymphome lymphoplasmocytaire (LPL). L'analyse des gènes d'immunoglobuline (Ig) dans LZMS montre une utilisation biaisée de certains gènes VH1 (VH1.2), suggérant un rôle d'antigènes inconnus dans la promotion de la croissance des cellules tumorales.¹⁰⁶

➤ Immunophénotypage par cytométrie en flux :

Les cellules néoplasiques sont généralement CD20 positives, CD3 négatives, CD23 négatives, CD43 négatives, CD38 négatives, CD5 négatives, CD10 négatives, CD103 négative, BCL6-négatives, BCL2 positives, cycline D1 négative, IgD positives, p27 positif Annexine A1 négatif. L'expression de DBA44 peut être trouvée dans une petite fraction des cas.¹⁰⁷La coloration MIB-1 montre un motif annulaire distinctif, indiquant la présence d'une fraction de croissance accrue dans les centres germinatifs et les zones marginales. La coloration BCL2 aide à distinguer les centres géminés réactifs, parfois infiltrés par des cellules néoplasiques BCL2-positives. La coloration MNDA a été proposée comme outil de diagnostic potentiel dans le diagnostic différentiel avec le lymphome folliculaire.¹⁰⁸

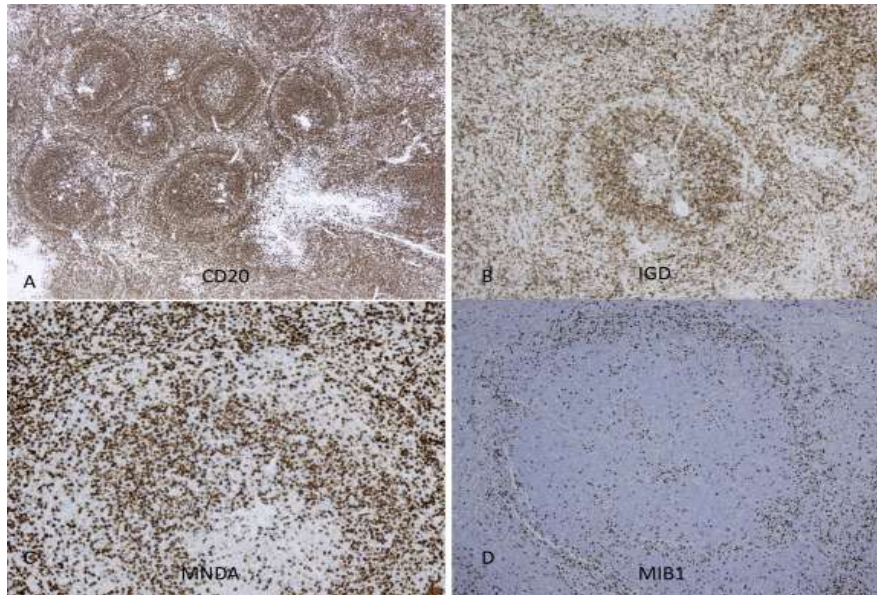


Figure 49: Caractéristiques immunophénotypiques du lymphome de la zone marginale splénique (MZLS) impliquant la rate.

A, CD20 révèle un motif microfolliculaire avec une infiltration pulpaire rouge. B, coloration IgD dans les cellules tumorales. C, la coloration MNDA délimite les différents compartiments occupés par les cellules tumorales. D, La coloration MIB-1 (Ki-67) souligne la présence d'un anneau de cellules proliférantes occupant la zone marginale

- **Lymphome de la zone marginale extraganglionnaire (Lymphome de MALT)**

- Morphologie :

Dans de nombreux cas, le LZME consiste en des foyers multifocaux, petits ou confluent, clonaux identiques des cellules malignes qui colonisent le centre germinale et sont dispersés dans tout l'organe impliqué. Le LZME montre un spectre morphologique, allant de mélanges de cellules B hétérogènes, y compris des cellules B monocytoïdes et plasmacytoïdes, de petits lymphocytes et des centrocytes à des proliférations monomorphes de cellules B monocytoïdes. Dans environ un tiers des cas, une différenciation plasmocytaire importante est observée. Outre les cellules tumorales, des cellules réactives supplémentaires sont présentes, constituées principalement de lymphocytes T. D'autres caractéristiques histologiques comprennent des vestiges d'hyperplasie folliculaire réactive et une infiltration de glandes ou de cryptes de tissus

adjacents accompagnées d'une destruction architecturale, entraînant des lésions lymphoépithéliales (LEL).¹⁰⁹

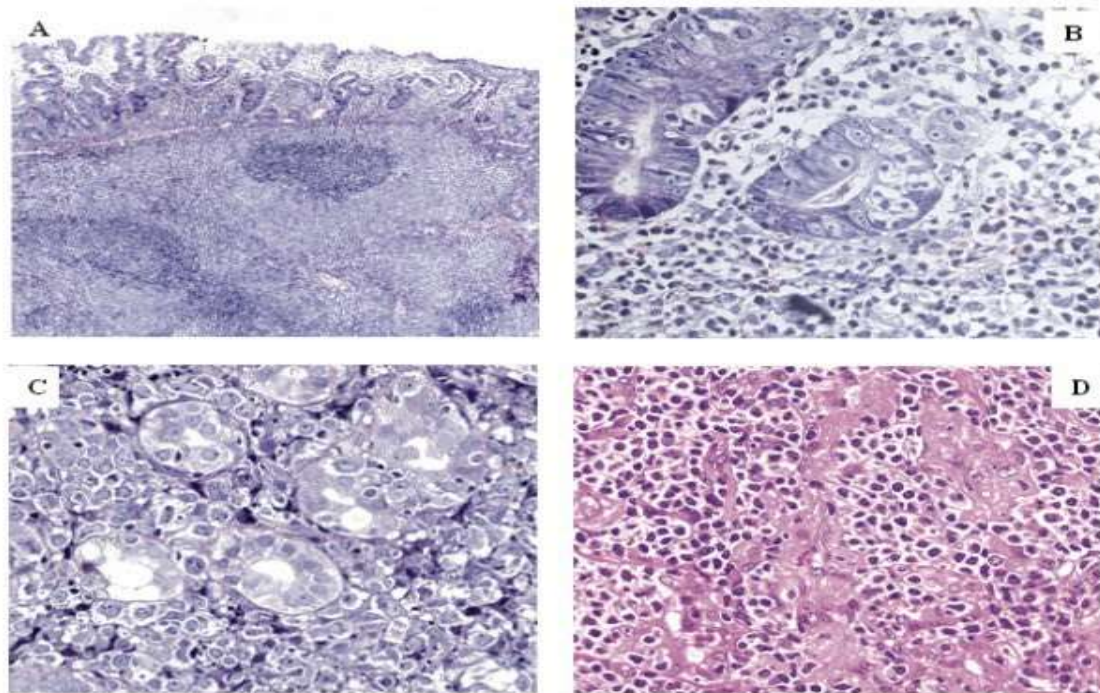


Figure 50: Micrographies représentatives des lymphomes du tissu lymphoïde associé à la muqueuse (MALT).

A) Lymphome du MALT gastrique de bas grade (aperçu d'une pièce opératoire), B) Lymphome du MALT gastrique de bas grade avec lésions lymphoépithéliales C) Lymphome de MALT gastrique blastoïde de haut grade, et D) lymphome MALT pulmonaire de bas grade.

➤ Caractéristiques cytogénétiques et moléculaires :

Bien que l'examen histopathologique reste l'examen de référence pour le Diagnostic, la détection de la monoclonalité des réarrangements du gène de l'immunoglobuline (IG) représente une aide utile. En particulier, l'inclusion de l'adhésion IGH-DJ incomplète en tant que cible de clonalité est très informative, car des réarrangements clonaux IGH-DJ se produisent dans de nombreux cas du LZME. De plus, les réarrangements clonaux IGH-DJ sont exclusivement présents dans 5 à 8 % des populations de cellules B clonales en l'absence de réarrangements IGH-VJ détectables. Dans les lymphomes extra-nodaux situés au niveau des annexes oculaires et des glandes salivaires, il existe une utilisation biaisée de l'IGH4-34 et de l'IGHV1-69, respectivement, tandis que ceux de l'estomac semblent avoir une surreprésentation

de l'utilisation de l'IGHV3-7 et de l'IGHV1-69. La Détection des aberrations chromosomiques par FISH et RT-PCR s'est avérée informative pour le diagnostic d'EMZL. La FISH est utilisée pour la détection des translocations chromosomiques impliquant IGH, MALT1, FOXP1 et BCL10, ainsi que des anomalies chromosomiques numériques, y compris les délétions et la trisomie des chromosomes 3, 12 et 18. Cependant, il convient de souligner que si la FISH positive associée aux caractéristiques cliniques et morphologiques de l'EMZL est très utile dans le diagnostic, la FISH négative ne doit pas exclure le diagnostic de l'EMZL. Grâce à l'identification des régions génomiques spécifiques réarrangées dans EMZL, la réaction en chaîne par RT-PCR de routine a également été mise en œuvre pour la détection des translocations génomiques et la présence de transcrits de fusion, tels que BIRC3-MALT1. De plus, la détection de BIRC3-MAL²T1 dans l'EMZL gastrique a des implications thérapeutiques.¹¹⁰

➤ Immunophénotypage par cytométrie en flux :

Les cellules néoplasiques du lymphome MALT expriment des marqueurs de cellules B (CD19, CD20, CD79a, PAX5 et Bcl-2), CD35+, CD43 positif ou négatif, mais manquent de CD5, CD10, Bcl-1, cycline D1 et CD23. Environ 30 à 50 % des cas expriment le CD43 et cela peut être utile pour distinguer le lymphome du MALT des infiltrats réactifs. Les cellules néoplasiques expriment également CD27, un marqueur des lymphocytes B activés et mémoire. Le composant plasmocytaire peut être mis en évidence avec un anticorps anti-CD138. Des cas peu fréquents sont CD5 positifs, et son expression a été rapportée avec un comportement clinique agressif chez certains patients. De très rares cas sont CD10 positifs mais Bcl-6 négatifs. Il existe également une importante population de cellules T, principalement CD4 positives. Il est important de noter que les cellules néoplasiques du lymphome du MALT présentent une restriction de la chaîne légère d'immunoglobuline, et sa démonstration est utile dans le diagnostic différentiel avec l'hyperplasie réactive.¹¹¹

Tableau 7: Résumé des caractéristiques des LZMs contribuant à leur Diagnostic différentiel

MALT lymphomas
Positive for IgM, CD20, CD79a, CD21, CD35
Negative for CD5, CD10, CD23, and cyclin D1
<i>t(11;18)</i> translocation in gastric MALT lymphoma in 30–50% of cases
Trisomy of chromosomes 3 and 18
Inactivation of <i>TNFAIP3</i> (6q23)
<i>Differential diagnoses [2]:</i>
Absence of CD5 is against MCL and SLL/CLL
Absence of cyclin D1/SOX11 is against MCL
Absence of CD10 is against FL
Nodal MZL
Positive for CD19, CD20, CD79a and PAX5
Usually negative for CD5, CD10, and CD23
Positive for MNDA
Trisomy of chromosomes 3 and 18.
Somatic mutations of <i>PTPRD</i> , <i>NOTCH2</i> , <i>MLL2</i>
<i>Differential diagnoses:</i>
FL with marginal zone differentiation: Careful histological review to identify BCL2-negative centroblasts, and centrocytes positive for BCL6 and CD10. FL is often positive for GCET1, LMO2 and HGAL and shows <i>t(14:18)</i> translocations. Stathmin1 may be helpful for identifying FLs that are negative for BCL2 and/or CD10.
LPL: clinical features, LPL presents with Waldenström's macroglobulinaemia, nodal MZL presents with lymphadenopathy. Nodal MZL has monocytoid cellular morphology, marginal zone growth pattern, and follicular colonisation. MYD88 L265P mutations are more common in LPLs.
Splenic MZL
Positive for CD20, CD79a, co-expression of IgM/IgD
Usually negative for CD5, CD10, CD23, CD43, and CD103
Trisomy of chromosomes 3 and 18
Deletion of <i>7q31-q32</i>
Cytogenetic aberrations involving chromosome 8
Somatic mutations of <i>NOTCH2</i> , <i>KLF2</i> , <i>MLL2</i> , <i>TP53</i>
Frequent use of IGHV1-02
<i>Differential diagnoses [2]:</i>
Absence of cyclin D1/SOX11 is against MCL
Absence of CD5 is against SLL/CLL
Absence of CD103 and annexin A1 against HCL
Absence of CD10 and BCL6 is against FL

7-LEUCEMIE A TRICHOLEUCOCYTES (HAIRY CELL LEUKAEMIA) :

La leucémie à tricholeucocytes (HCL) a été initialement signalée en 1958 par Bouroncle et ses collègues comme une tumeur maligne indolente associée à une pancytopénie et une splénomégalie qui représentaient 2 % de toutes les leucémies. Elle est reconnue comme une entité par l'Organisation mondiale de la santé (OMS 2008) et la révision 2016 de la

classification de l'OMS des néoplasmes lymphoïdes. La HCL reste une maladie incurable caractérisée par de longues périodes de rémission avec une rechute éventuelle et la nécessité d'un retraitement chez de nombreux patients.

7-1 Incidence :

L'âge médian des patients atteints de HCL classique est de 55 à 60 ans, bien que le diagnostic soit souvent précédé de cytopénies durant des années. La HCL, est quatre à cinq fois plus fréquente chez les hommes que chez les femmes, et représente 2 % de toutes les leucémies, avec une incidence estimée à 0,29 pour 100 000 personnes-années en France et environ 1240 nouveaux cas de HCL attendus par an aux États-Unis. Les quelques études basées sur la population disponible sont limitées et montrent un taux d'incidence global standardisé selon l'âge qui est relativement stable, une amélioration de la survie globale (OS) et relative (RS).¹¹²

7-2 Physiopathologie :

Malgré l'absence d'expression du CD27, les études transcriptomiques suggèrent que les tricholeucocytes dérivent d'un lymphocyte B mémoire. Les cellules B mémoire post-germinales à activation tardive et éventuellement les cellules B de la zone marginale splénique sont considérées comme la cellule d'origine de la HCL. Le profilage de la méthylation de l'ADN réalisé dans 41 tumeurs matures à cellules B dont 11 patients atteints de HCL est en faveur d'une origine post-germinale des cellules velues. L'analyse moléculaire du répertoire du réarrangement variable des chaînes lourdes du gène des immunoglobulines (IGHV) et du schéma des hypermutations somatiques (SHM) ont montré une utilisation préférentielle de VH3, spécialement VH3-30 et VH3-23. Remarque, BRAF-V600E a été identifié dans les cellules souches hématopoïétiques (CSH). De plus, l'expression de BRAF-V600E dans les cellules souches/progénitrices hématopoïétiques murines peut provoquer une maladie de type leucémie à tricholeucocytes. De plus, BRAF-V600E a été trouvé dans l'histiocytose à cellules de Langerhans (LCH) et la maladie d'Erdheim Chester (ECD). Un LCH chez un patient a été récemment décrit, suggérant la possibilité d'une relation entre HCL et LCH. Cependant, le schéma de distribution des allèles mutants dans le compartiment mononucléaire et la moelle osseuse est clairement différent entre les patients avec HCL et LCH/ECD. Dans LCH/ECD, la majorité des allèles mutants étaient présents dans les monocytes classiques CD14+, les monocytes non classiques CD16+ et les cellules dendritiques myéloïdes CD1c+ dans le sang

périphérique. Ils sont distribués dans les CSH et les progéniteurs myéloïdes dans la moelle osseuse. Les allèles mutants ne se trouvent pas dans les monocytes et les cellules myéloïdes de la HCL, mais sont présents dans les cellules B et NK normales. Une entité distincte est connue sous le nom de variante de leucémie à tricholeucocytes (HCL-V), qui est biologiquement unique à partir de HCL existe également. Le variant peut être identifié par des différences immunophénotypiques, l'absence de mutation BRAF et l'absence de monocytémie.¹¹³

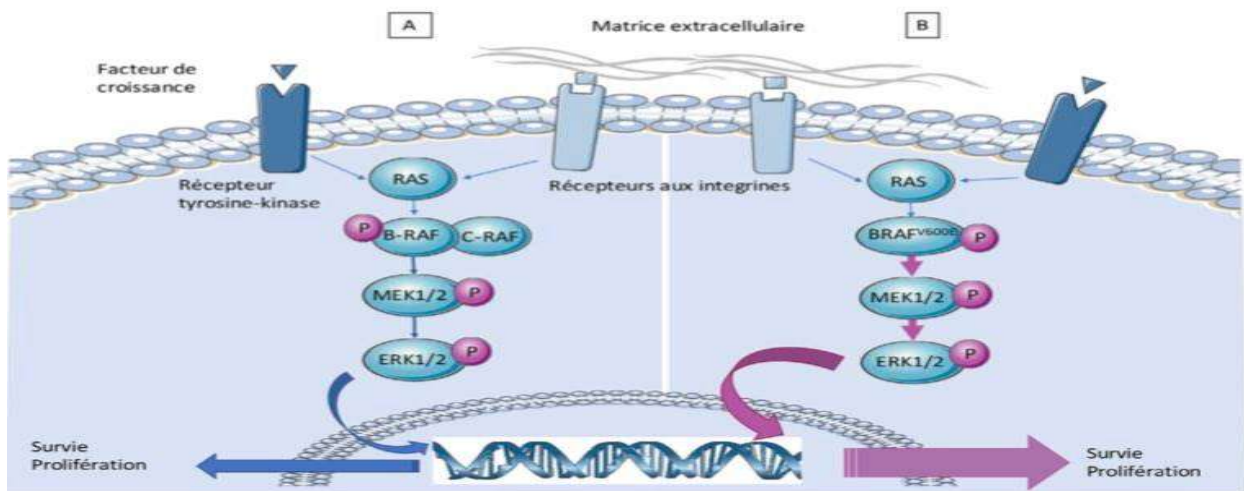


Figure 51: L'origine et la Pathogenèse du tricholeucocytes.

7-3 Présentation clinique :

HCL est généralement caractérisée par des infections, une splénomégalie ou la présence de cytopénies. Des manifestations auto-immunes ou des manifestations inhabituelles peuvent être identifiées, dont certaines peuvent imiter le myélome multiple. Les patients atteints présentent souvent des symptômes non spécifiques, notamment de la fatigue et de la faiblesse, ainsi que des symptômes liés aux cytopénies et à la splénomégalie. Quarante-vingt pour cent des patients présenteront des cytopénies importantes à la présentation, avec une pancytémie sévère dans moins de 10 % des cas. Alors que la splénomégalie est une caractéristique prédominante, la splénomégalie massive et symptomatique est moins fréquente, peut-être en raison d'une détection plus précoce lors de la numération formule sanguine (FSC). Des manifestations auto-immunes ou des manifestations inhabituelles peuvent être identifiées, dont certaines peuvent imiter le myélome multiple. Une thrombocytopénie auto-immune et une anémie hémolytique

peuvent survenir avec une leucémie à tricholeucocytes, rarement. Les complications infectieuses sont fréquentes, en raison à la fois de l'immunosuppression sous-jacente des cytopénies et du traitement myélosuppresseur. Ces signes et symptômes et d'autres peuvent être causés par la leucémie à tricholeucocytes ou par d'autres conditions tout comme une faiblesse ou une sensation de fatigue, une fièvre ou des infections fréquentes, des ecchymoses ou saignements faciles, L'essoufflement, perte de poids pour une raison inconnue, une douleur ou sensation de plénitude sous les côtes, des boules indolores dans le cou, les aisselles, l'estomac ou l'aîne.¹¹⁴

7-4 Critères diagnostique :

Le diagnostic est réalisé par des études sur le sang périphérique, y compris la cytométrie en flux et l'examen des frottis sanguins périphériques, ainsi qu'une biopsie de la moelle osseuse. Un « tapotement sec » ou une incapacité à effectuer une aspiration de la moelle osseuse est fréquemment rencontré avec la leucémie à tricholeucocytes, mais pas avec HCL-V.

7-4-1 Morphologie :

Avec la fréquence élevée des analyses de sang périphérique de routine, les cellules ciliées peuvent également être détectées chez les patients asymptomatiques. Une formule sanguine complète et un examen minutieux du frottis sanguin périphérique sont la première étape de l'identification morphologique très caractéristique des cellules pileuses. Le diagnostic de HCL est basé sur des preuves morphologiques de cellules pileuses à l'examen microscopique. Les cellules HCL peuvent être identifiées dans les frottis sanguins périphériques colorés au Romanowsky d'environ 90 % des patients en tant que cellules mononucléées qui sont généralement 1 à 2 fois la taille d'un lymphocyte mature. Les noyaux sont le plus souvent ovoïdes mais peuvent être ronds, ovales ou en forme de fer à cheval. Le cytoplasme est variable en quantité mais généralement abondant, bleu pâle à bleu-gris, et parfois décrit comme « duveteux » ou « poilu ». Les projections velues sont plus facilement visualisées au microscope électronique.

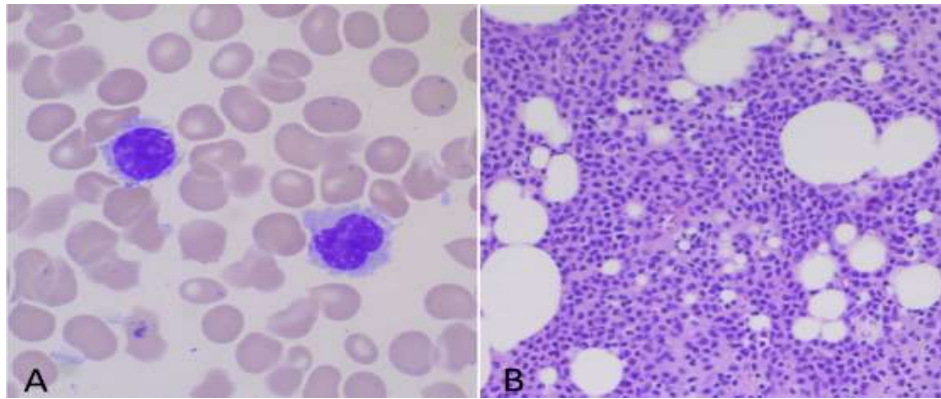


Figure 52: Cytologie et histologie de la moelle osseuse de la leucémie à tricholeucocytes

A. Les frottis sanguins périphériques montrent fréquemment des cellules leucémiques circulantes avec un aspect monocytoïdes et des projections villeuses circonférentielles. B Biopsie trépanique démontrant une infiltration marquée par des lymphocytes monocytoïdes

7-4-2 Critères cytogénétiques et moléculaires :

La mutation BRAF V600E a été identifiée en 2011 à l'aide de séquençage de l'exome entier comme événement génétique causal dans la pathogenèse de HCL. La mutation confère une activation de la voie BRAF-MAPK et favorise la survie de la tumeur. BRAF V600E a également été proposé pour expliquer la morphologie "poilue". Plusieurs rapports décrivent des anomalies non clonales ou oligoclonales dans la HCL et dans certains cas avec des anomalies clonales, des translocations impliquant le site 14q32.3 du locus IGH, des réarrangements de 14q22-24 et des anomalies des chromosomes 11 et 12 ont été décrites.¹¹⁵

HCL-V est souvent caractérisé par un caryotype complexe. La translocation t (14 ; 18) (q32 ; q21) observée dans le lymphome folliculaire et t (2 ; 8) (p12 ; q24) observée dans le lymphome de Burkitt variant ont été rapportées dans la HCL-V.

La délétion moléculaire de la cartographie du gène suppresseur de tumeur p53 sur le chromosome 17p13 se produit avec une incidence élevée à la fois dans HCL et HCL-V. Mais une différence significative est observée dans la proportion de cellules avec un allèle supprimé dans HCL-V par rapport à HCL et est en corrélation avec la tendance bien connue à la transformation et à la mauvaise réponse au traitement caractéristique de HCL-V¹¹⁶

7-4-3 Immunophénotypage par cytométrie en flux :

L'immunophénotypage par cytométrie en flux (FCI) est un outil essentiel dans le diagnostic de la leucémie à tricholeucocytes (HCL). HCL a un immunophénotype distinctif basé sur la coloration avec des anticorps anti-CD5 (négatif), CD10 (négatif), CD23 (négatif), CD20 (anormalement brillant), CD22 (anormalement brillant), CD11c (anormalement brillant), CD25 (anormalement brillant), CD103 (positif) et CD123 (positif). Grâce à cet immunophénotype unique, Le FCI peut différencier les cellules poilues malignes des cellules B normales et autres troubles lymphoprolifératifs, en particulier la variante de la leucémie à tricholeucocytes morphologiquement similaire et lymphome splénique à lymphocytes vilieux. Le FCI est extrêmement sensible dans la détection d'une maladie minimale et est utile dans surveillance de la réponse au traitement¹¹⁷

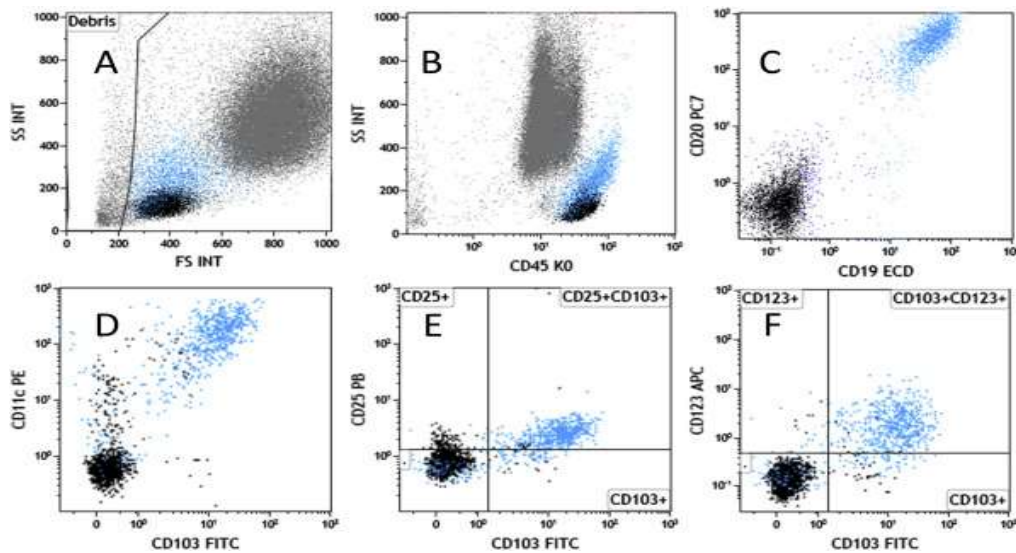


Figure 53: Immunophénotypage de la leucémie à tricholeucocytes par cytométrie en flux

A- B. Les cellules poilues (surlignées en bleu) présentent une coloration pour CD45 dans la région des autres lymphocytes matures (noir), avec une dispersion latérale accrue, tombant souvent dans la région des monocytes. C–F. Cellules poilues démontrant des niveaux accrus de CD19 et CD20, avec une coexpression homogène de CD11c, CD25, CD103 et CD123.

8-AUTRES LYMPHOMES SPLENIQUES A CELLULES B :

8-1 Lymphome splénique à petites cellules B de la pulpe rouge diffuse SDRPL :

Le lymphome splénique diffus de la pulpe rouge à petites cellules B (SDRPL) est un lymphome extrêmement rare (incidence < 1 % des lymphomes non hodgkiniens) qui est classé comme une entité provisoire dans la catégorie des lymphomes/leucémies spléniques à cellules B inclassables dans l'édition de l'OMS de 2008, et dans la mise à jour de 2016 récemment publiée de la classification des tumeurs lymphoïdes. Une présentation leucémique avec splénomégalie, dissémination de la moelle osseuse et cellules poilues dans le sang périphérique est la condition sine qua non de la SDRPL, mais ces caractéristiques sont loin d'être spécifiques. Il existe un chevauchement morphologique considérable avec d'autres lymphomes qui affligent principalement la rate et présentent également des lymphocytes villeux, tels que le lymphome de la zone marginale splénique (SMZL), la leucémie à tricholeucocytes (HCL) et, rarement, la variante de la leucémie à tricholeucocytes. (HCL-V). Des cas de lymphome splénique à cellules B ont été décrits, où l'histologie montre une atteinte purement pulpaire rouge et une population monomorphe de cellules tumorales ressemblant à des cellules B de la zone marginale, avec des cellules blastiques nucléolées dispersées. Tant dans la rate que dans la moelle osseuse, ces cas ont un schéma d'atteinte intra-sinusoïdal caractéristique¹⁸. Ces tumeurs semblent manquer de mutations BRAF et d'expression d'Annexine A1 et d'expression plus fréquente d'IgG et DBA44 a été trouvé dans ces cas par rapport à LZMS. La plupart des lymphomes à petites cellules B de la pulpe rouge de la rate étaient IgH muté, avec une surreprésentation des familles de gènes V(H)3 et V(H)4. Le lymphome de la pulpe rouge splénique n'a pas les mutations caractéristiques NOTCH2 et KLF2 qui sont présentes dans LZMS, tout en présentant quelques mutations dans NOTCH1 et MAP2K1. Contrairement au SMZL, au HCL et au HCL-V, qui peuvent être diagnostiqués sur une biopsie de sang périphérique/tréphine BM, le SDRPL nécessite une splénectomie pour confirmer le diagnostic. L'histologie de la rate montre une infiltration diffuse de la pulpe rouge due à de petits lymphocytes monotones provoquant une quasi-oblitération de la pulpe blanche. Le profil immunophénotypique implique que les cellules tumorales caractéristiques sont constamment positives pour CD20, DBA-44 et IgG. SDRPL est négatif pour CD3, CD5, CD10, CD11c, CD23, CD25, CD103, CD123, Cyclin-D1

et Annexin-A1. Le SRPL exprime le CD11c (expression forte), le CD103 (expression forte) est retrouvé dans 33% des cas, le CD123 dans 15% des cas et le CD25 est généralement négatif.¹¹⁹

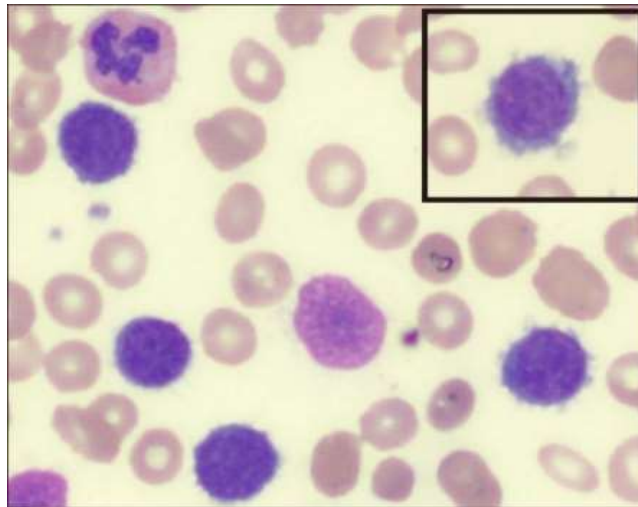


Figure 54: Population monomorphe de lymphocytes villeux. Histologie splénique infiltration diffuse de la pulpe rouge avec disparition de la pulpe blanche.

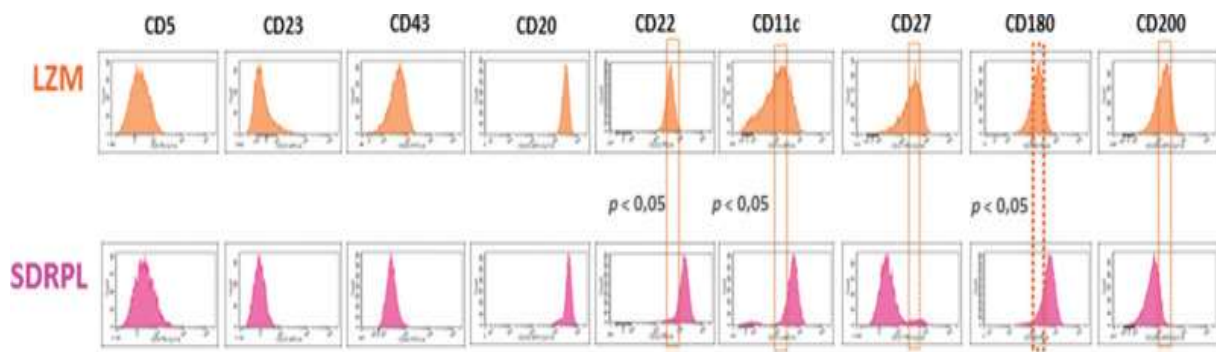


Figure 55: Immunophénotypage par cytométrie en flux différenciant LZM de SDRPL.

Histogramme représentant les expressions des principaux marqueurs (CD5, CD23, CD43, CD20, CD22, CD11c, CD27, CD180 et CD200), et en particulier ceux permettant de faire le diagnostic différentiel entre le lymphome de la zone marginale splénique (LZMS)(orange) et le lymphome diffus de la pulpe rouge (SDRPL)(rose) (histogrammes fenêtrés sur le contingent B CD19+).

8-2 Leucémie à tricholeucocytes variante :

Le terme de leucémie à tricholeucocytes variante (HCLv) englobe les désordres lymphoprolifératifs chroniques B qui ressemblent à la leucémie à tricholeucocytes mais possèdent des caractéristiques cyto-hématologiques différentes, des immunophénotypes différents ou une résistance aux traitements classiques des leucémies à tricholeucocytes. La leucémie à tricholeucocytes (HCL) est une maladie rare lymphoproliférative à cellules B matures (2 % de toutes les leucémies lymphoïdes, 0,4% des hémopathies lymphoïdes malignes et 10% des leucémies tricholeucocytes). Caractérisée par une splénomégalie, des cytopénies et des cellules distinctives avec des projections cytoplasmiques circonférentielles dans le sang et la moelle osseuse. Il existe peu de données sur les caractéristiques génétiques de cette leucémie, le taux d'hypermutation somatique des gènes des IGHV est faible, des cas de délétions 8q, 17p, et de trisomie 12 ont été rapportés. Le sang périphérique est le meilleur tissu pour l'analyse cytologique du HCL-v. L'absence de la mutation BRAFV600E caractéristique de la leucémie à tricholeucocytes suggère que cette entité provisoire est bien distincte de celle-ci. Le sang périphérique est le meilleur tissu pour l'analyse cytologique. Dans l'ensemble, l'image est monomorphe, le composant cellulaire principal étant une cellule lymphoïde de taille moyenne à grande qui présente un cytoplasme irrégulier abondant avec des projections fines ou mal définies similaires à celles des cellules poilues typiques. Le noyau a un contour régulier avec un seul nucléole proéminent et la chromatine est relativement condensée, semblable à celle des prolymphocytes ; parfois des cellules plus grandes avec un noyau bilobé sont identifiées dans les frottis sanguins. Le degré de basophilie cytoplasmique varie de léger à modéré et, dans certains cas, le cytoplasme est très pâle. L'immunophénotypage du sang périphérique d'un patient HCL-v montre les marqueurs de lymphocytes B (CD19+), monoclonaux (sIg Kappa+), CD103+, CD11c+, CD20++, CD22+, IgM+ / ++ FMC7++, CD79b++, BCL2+ et aucune expression de sIg Lambda, CD3, CD4, CD5, CD8, CD10, CD23, CD24, CD25, CD27, CD38, CD43 et CD123.¹²⁰

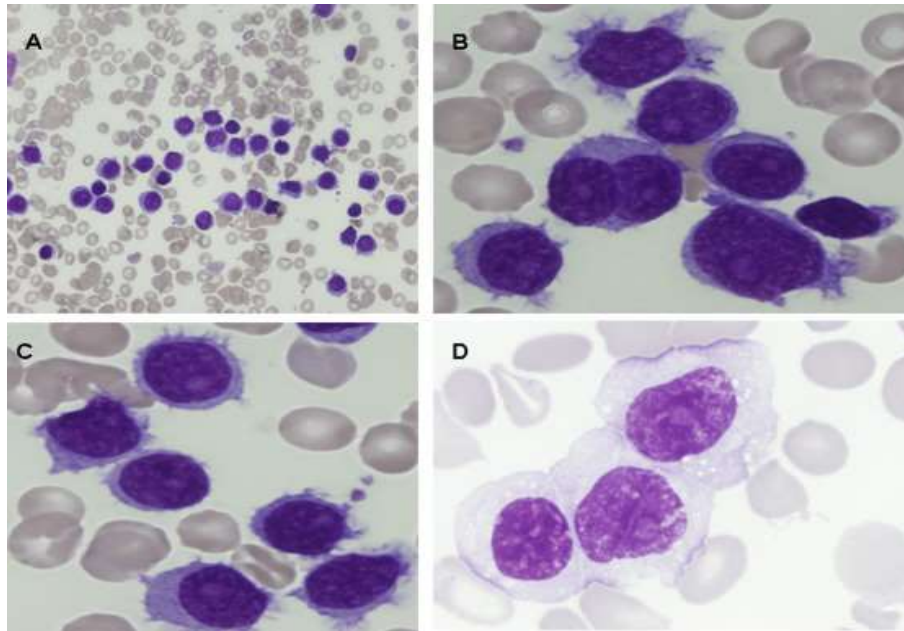
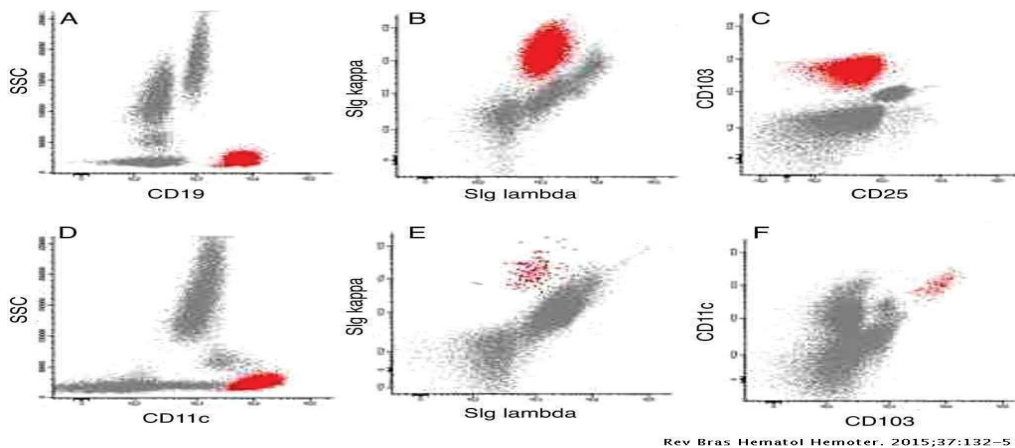


Figure 56: May Grumwald Giemsa a coloré les frottis sanguins périphériques de deux patients atteints de HCL-V.



Rev Bras Hematol Hemoter. 2015;37:132-5

Figure 57: Parcelles de points représentatives de l'immunophénotypage typique de HCL-v .

(A) Cellules pathologiques (rouge) CD19+ au diagnostic ; (B) cellules pathologiques (rouge) sIg Kappa+ et sIg Lambda- au diagnostic ; (C) cellules pathologiques (rouge) CD103+ et CD25- au diagnostic ; (D) cellules pathologiques (rouge) CD11c+ au diagnostic ; (E) cellules pathologiques (rouges) sIg Kappa+ et sIg Lambda- dans une maladie résiduelle minimale ; (F) cellules pathologiques (rouge) CD103+ et CD11c+ dans une maladie résiduelle minimale.

Tableau 8: Diagnostic différentiel entre HCL, HCL-v et, SMZL et SDRPL

	HCL-c	HCL-v	SDRPL	SMZL
Épidémiologie				
Incidence ¹	0,3	0,2	nd	0,2
Survie globale (à 5 ans)	78-92 %	57 %	93 %	83-91 %
Sex-ratio (M/F)	4	1,6	1,6	0,5
Âge médian (années)	55	70	77	62
Monocytopénie	+	-	-	-
Cytologie				
Villosités	Longues fines et circonférentielles	Longues fines et circonférentielles	Longues, base large et circonférentielles	Petites, polaires
Nucléole	Occasionnel, discret	Constant, proéminent	Occasionnel	Petit
Chromatine	Mature, homogène	Condensée	Condensée	Légèrement mottée
Immunophénotype				
Annexine A1	+	-	-	-
CD11c	+++	+	+	+ faible
CD25	+++	-	-	-
CD103	+++	+	-	-
CD123	+++	- ou + faible	-	-
Cd27	-	nd	-	+
CD180	+++	nd	+++	+
CD200	+++	-	-	-
Biologie moléculaire				
IGHV mutés (%)	83-90 %	46-73 %	79 %	59-68 %
Répertoire IGVH (frq > 10 %)	VH3-30, VH3-23, VH4-34	VH4-34	VH4-34, VH3-23	VH1-2, VH4-34
<i>BRAF</i> ^{V600E}	+	-	-	-
<i>MAP2K1</i> mutations	0-18,5 %	9-48 %	10,5 %	nd
<i>CKDN1B</i> mutations	11-16 %	0 %	nd	nd
<i>NOTCH1</i> mutations	5 %	nd	10,5 %	5 %
<i>NOTCH2</i> mutations	0 %	nd	0-3 %	17-21 %
<i>TP53</i> mutations	0-28 %	25 %	0-5 %	13,5-25 %
<i>KLF2</i> mutations	10-17 %	nd	nd	42 %
<i>CCND3</i> mutations	nd	13 %	21-24 %	13 %
<i>KMT2C</i> mutations	15 %	25 %	nd	nd
<i>BCOR</i> mutations/délétion	0 %	nd	24 %	2 %

HCL-c : leucémie à tricholeucocytes classique ; HCL-v : leucémie à tricholeucocytes variante ; SDRPL : lymphome diffus splénique de la pulpe rouge ; SMZL : lymphome de la zone marginale splénique ; + positif ; - : négatif ; +++ : expression forte ; nd : données non disponibles.

9- LYMPHOME LYMPHOPLASMOCYTAIRE / MACROGLOBULINÉMIES DE WALDENSTRÖM :

La leucémie prolymphocytaire B (LPL-B) a été décrite pour la première fois par Galton et al., en 1974, comme étant une forme variante agressive de la leucémie lymphoïde chronique (LLC). Le lymphome lymphoplasmocytaire est une forme indolente ou à croissance lente de LNH qui prend naissance dans les cellules B, et 1 % des personnes atteintes de LNH ont ce sous-type. Le lymphome lymphoplasmocytaire touche souvent la moelle osseuse, parfois les ganglions lymphatiques et la rate. Chez de nombreuses personnes, ce lymphome produit une protéine, appelée immunoglobuline M (IgM) ou protéine M, cependant quelques cas sont des LPL sécrétant des IgA, sécrétant des IgG ou non sécrétant. La LPL avec IgM détectable sur les tests sanguins est appelée macroglobulinémie de Waldenström (MW). Elle porte le nom du scientifique qui la décrit le premier. La majorité des cas de lymphomes lymphoplasmocytaires sont des macroglobulinémies de Waldenström.¹²¹

9-1 Incidence :

La LPL-B est une hémopathie extrêmement rare, représentant probablement moins de 1 % des hémopathies B matures avec une incidence annuelle de 3 à 4 cas par un million de personnes, affectant le plus souvent les hommes blancs plus âgés. L'âge médian est 64 tandis que l'âge moyen du diagnostic est de 70 ans. La maladie est moins fréquente chez les femmes que chez les hommes et est beaucoup moins fréquente chez les Noirs que chez les Blancs. Une prédisposition génétique a également été suggérée, car environ 20 % des patients atteints de MW ont un parent au premier degré avec un trouble hématologique connexe tel qu'un lymphome non hodgkinien (LNH), un myélome multiple (MM), une leucémie lymphoïde chronique (LLC), une gammopathie de signification indéterminée (MGUS), leucémie lymphoïde aiguë (LAL) ou lymphome hodgkinien.¹²²

9-2 Physiopathologie :

On pense que les cellules malignes du lymphome lymphoplasmocytaire proviennent de cellules à un stade tardif de la différenciation des cellules B. Ces cellules dérivent d'un arrêt des lymphocytes B après une hypermutation somatique dans le centre germinatif et avant la différenciation terminale en un plasmocyte. Les signes pathologiques du lymphome lymphoplasmocytaire sont dus à l'infiltration de la moelle osseuse par de petits lymphocytes et

à une gammopathie monoclonale IgM. Les symptômes visuels et neurologiques sont liés à l'hyperviscosité et à la lenteur du flux sanguin. Les saignements rencontrés dans la macroglobulinémie de Waldenström sont dus à la liaison des IgM aux facteurs de coagulation. Le profil immunophénotypique de LPL/WM en combinaison avec la présence de mutations somatiques de gènes dans la région variable de chaîne lourde d'immunoglobuline sans diversité intra clonale suggère que les cellules malignes proviennent de cellules à un stade tardif de différenciation dérivée d'une cellule B arrêtée après somatique. L'hypermutation dans le centre germinatif et avant la différenciation terminale en un plasmocyte. Les causes de la LPL/WM sont mal comprises ; cependant, des données émergentes soutiennent le rôle des facteurs immunitaires et génétiques dans l'étiologie de la LPL/WM. Quelques études ont rapporté des preuves de mutations fréquentes du gène des immunoglobulines somatiques, suggérant que la stimulation antigénique chronique pourrait jouer un rôle étiologique. Des études basées sur la population aux États-Unis ont montré que l'auto-immunité et l'infection virale de l'hépatite C étaient associées à un risque accru de développer la MW, bien que cela ne soit pas soutenu par d'autres études.¹²³

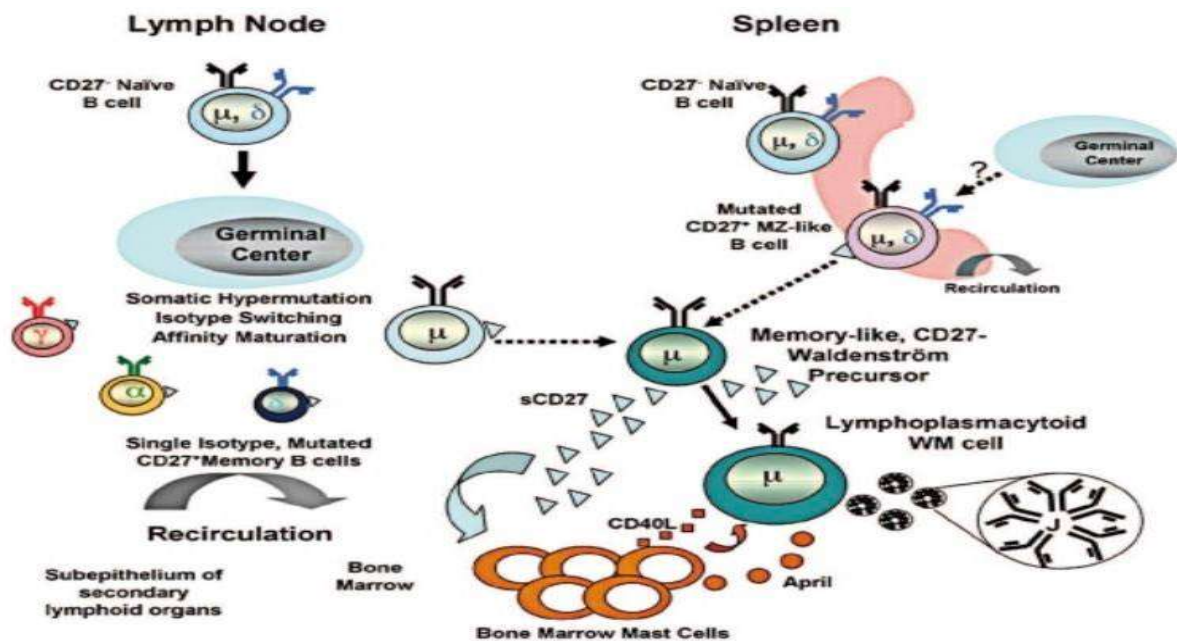


Figure 58: La cellule MW pourrait provenir d'un précurseur somatiquement muté "semblable à la mémoire" qui a perdu les marqueurs de mémoire classiques tels que CD27 en raison de l'excrétion de la surface.

Il reste à déterminer si ce précurseur de mémoire provient d'un centre germinatif (cellule B mémoire à isotype unique) ou d'une réaction T-indépendante de type zone marginale (double isotype, IgM+ IgD+ cellule B), car ces deux types de cellules accumulent des mutations somatiques.

9-3 Présentation clinique :

Au moment du diagnostic, environ 19 % à 28 % des patients MW sont asymptomatiques. Ces patients peuvent rester asymptomatiques pendant 5 à 10 ans avant de développer des symptômes qui indiquent d'initier un traitement. L'infiltration de la moelle osseuse et des sites extramédullaires, tels que les ganglions lymphatiques, la rate et le foie, par des cellules B malignes et des taux élevés d'IgM contribuent aux symptômes associés à une splénomégalie importante, avec peu ou pas d'adénopathies périphériques, une pancytopenie, l'organomégalie et l'hyperviscosité. La plupart des patients sont soit asymptomatiques, soit anémiques ; présenter des symptômes d'hyperviscosité est rare. Dans de rares cas, une infiltration lymphoplasmocytaire diffuse des poumons, de l'estomac ou des intestins peut survenir. Les rares cas de MW sont associés à une présentation clinique d'urticaire diffuse et de paraprotéinémie IgM appelée syndrome de Schnitzler. Les symptômes caractéristiques du syndrome d'hyperviscosité comprennent des saignements des muqueuses, des troubles visuels et des maux de tête. Les manifestations neurologiques plus graves incluent la confusion mentale, les déficits neurologiques focaux et les accidents vasculaires cérébraux. Le syndrome d'hyperviscosité survient chez jusqu'à 30 % des patients, les symptômes d'hyperviscosité apparaissant généralement lorsque la plage de référence de viscosité sérique de 1,4 à 1,8 cP atteint 4 à 5 cP (correspondant à un taux d'IGM sérique d'au moins 3,0 g/dL). La paraprotéine peut également avoir une activité d'auto-anticorps ou de cryoglobuline entraînant des phénomènes auto-immuns ou une cryoglobulinémie. La cryoglobulinémie chez les patients atteints de macroglobulinémie de Waldenström entraîne des phénomènes de Raynaud et une urticaire au froid. Le dépôt d'IgM peut entraîner des neuropathies périphériques et une insuffisance rénale. Les symptômes peuvent varier considérablement d'un patient à l'autre.¹²⁴

9-4 Critères de Diagnostic :

Les LPL à composante monoclonale IgG sont rares et peu rapportés dans la littérature. Le Diagnostic différentiel avec d'autres lymphomes B à petites cellules (lymphome de la zone marginale, leucémie lymphoïde B chronique) est parfois délicat. Plus de 95% des patients atteints de LPL sécrètent une paraprotéine monoclonale d'immunoglobuline M (IgM), une maladie connue sous le nom de macroglobulinémie de Waldenström (WM). Moins de 5% des cas de LPL sont associés à des paraprotéine non IgM, y compris IgG, IgA, kappa ou lambda, ou sont non sécrétoires ; ces patients n'ont pas l'impression d'avoir la MW. Le diagnostic de LPL/WM est fait sur la base des résultats de la biopsie de la moelle osseuse, l'électrophorèse des protéines sériques (EPS) et le scénario clinique. Les critères suivants doivent être respectés, sur la base des recommandations du troisième Atelier international sur la macroglobulinémie de Waldenström (IWWM) : Une protéine monoclonale IgM sérique de toute taille, Atteinte de la moelle osseuse par un infiltrat intertrabéculaire, de toute taille, de petits lymphocytes, formes lymphoplasmocytoïdes et plasmocytes, les cellules lymphocytaires expriment typiquement des IgM de surface, CD19, CD20 et CD22.¹²⁵

9-4-1 Cytologie :

L'examen cytologique des frottis médullaires, colorés au MayGrünwald Giemsa (MGG) met en évidence une infiltration hétérogène par des petits lymphocytes matures (40 %) à la chromatine dense, monomorphe avec une différenciation lymphoplasmocytaire, accompagnés de rares plasmocytes. On observe par ailleurs de nombreux dépôts d'aspect cotonneux rosés évoquant des dépôts amyloïdes.¹²⁶

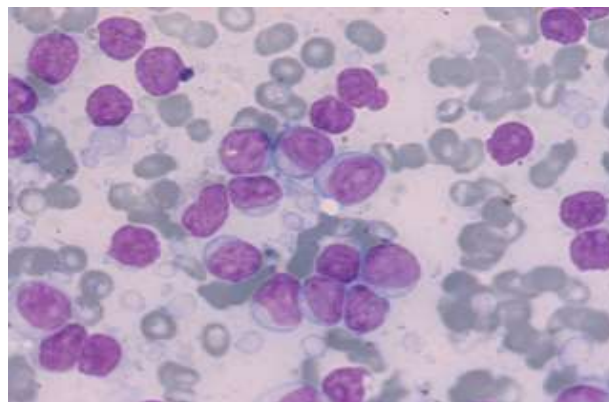


Figure 59: Prolifération diffuse faite de petits lymphocytes B matures, De lymphoplasmocytes et de plasmocytes.

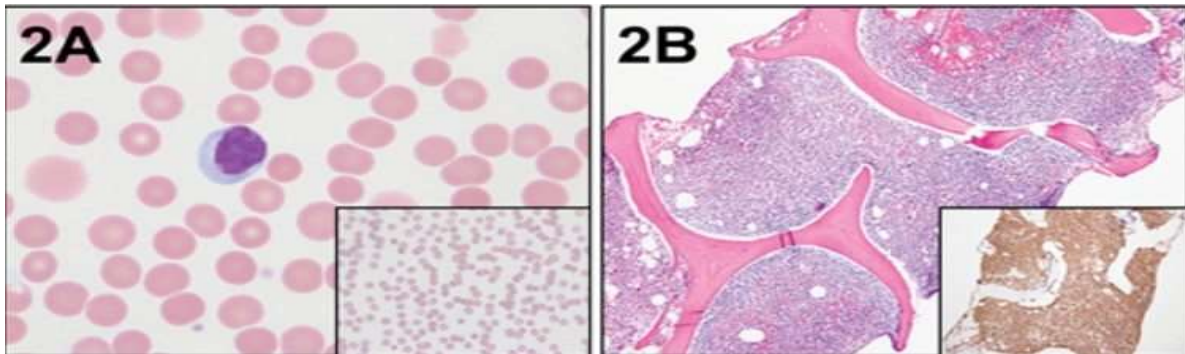


Figure 60: Caractéristiques morphologiques du lymphome lymphoplasmocytaire/macroglobulinémie de Waldenström.

A, le test sanguin périphérique coloré par Wright-Giemsa montre un lymphocyte plasmacytoïdes et une formation de rouleaux proéminents. B, Une biopsie au trocart montre une moelle osseuse colorée à l'hématoxyline-éosine, avec une moelle osseuse hypercellulaire et une infiltration marquée par un spectre de petits lymphocytes, de lymphocytes plasmacytoïdes et de plasmocytes.

9-4-2 Critères génétiques et moléculaires :

Comme tous les néoplasmes à cellules B, les cellules B de la LPL ont des gènes d'immunoglobuline réarrangés de manière clonale. L'hypermutation somatique est présente dans plus de 90 % des cas de LPL/WM, et une utilisation biaisée de la région variable de la chaîne lourde des immunoglobulines a été documentée, suggérant que la sélection antigénique est impliquée dans le développement de ce lymphome à cellules B mature. Malgré la différenciation plasmocytaire, il existe des preuves d'une transition dérégulée des cellules LPL B vers des plasmocytes avec des modèles d'expression génique aberrants et un manque de commutation de classe de chaîne lourde dans LPL. Des rapports antérieurs sur l'association de LPL/WM avec t(9 ; 14)(p13 ; q32) IGH/PAX5 n'ont pas été pris en charge dans des études plus récentes. L'intérêt récent s'est concentré sur la présence de délétions 6q, signalées dans jusqu'à 63 % des LPL/WM. Bien que la délétion 6q soit relativement non spécifique, il peut avoir un rôle oncogène dans la LPL/WM, ayant été associé à des caractéristiques de pronostic défavorable, probablement via l'inactivation des régulateurs négatifs de la voie de signalisation du facteur nucléaire κ B (NF- κ B). Des rapports récents suggèrent que La LPL peut dépendre de la signalisation constitutive de NF- κ B, avec une grande proportion de cas de LPL contenant

une variante somatique dans le gène MYD88 qui active de manière constitutive NF-κB. Fait intéressant, bien que 90 % des cas de LPL aient démontré cette mutation, elle n'a été trouvée que dans 6 % des cas de MZL. Les anomalies génétiques 13q- et la trisomie 12, généralement associées à la LLC, sont rares dans la LPL/WM. La trisomie 4, cependant, semble être spécifique de la LPL/WM et a été rapportée dans 20 % des cas.¹²⁷

9-4-3 Immunophénotypage par cytométrie en flux :

Les résultats de la cytométrie en flux montrent les caractéristiques des lymphocytes B avec l'expression des IgM et des marqueurs de différenciation et des lymphocytes B. La macroglobulinémie de Waldenström est caractérisée dans la plupart des cas par un immunophénotype de surface IgM+ sIgD+/- CD5- CD10- CD19+ CD20+ CD22+ CD23- CD25+ CD27+ CD75- CD79+ CD103- CD138- FMC7+

BCL -2+ BCL- 6- PAX- 5+. En pratique, un immunophénotype sIgM+ CD5- CD10- CD19+ CD20+ CD23- associé à un schéma d'infiltration non paratrabéculaire est le diagnostic de macroglobulinémie de Waldenström.¹²⁸

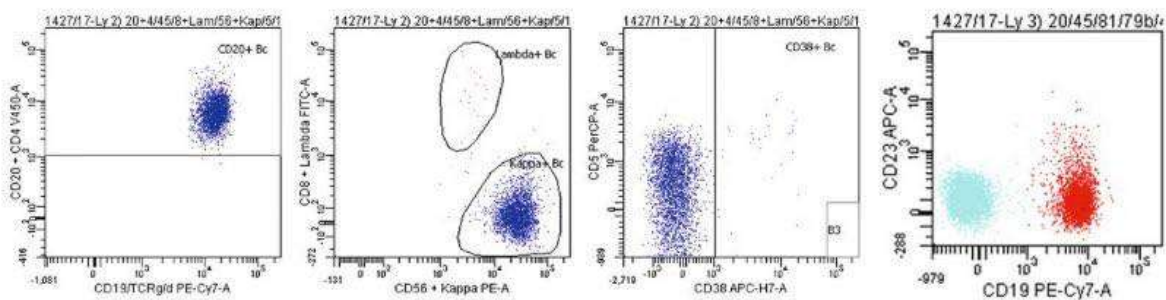


Figure 61: Immunophénotypage de la moelle osseuse par cytométrie en flux.

Les lymphocytes anormaux expriment les marqueurs suivants : CD19, CD20 (expression d'intensité intermédiaire), CD5 (expression partielle). Le CD23 et le CD38 sont négatifs. Il y a une expression monoclonale kappa. L'expression du CD5 est retrouvée dans 10% des cas de la maladie de Waldenström.

9-4-4 Diagnostic différentiel :

Tableau 9: Caractéristiques de différenciation entre la MW et d'autres syndromes lymphoprolifératifs

Diagnostic différentiel	Caractéristiques
IgM MGUS	Les critères de MW ne sont pas remplis Absence d'anomalie cytogénétique avec 6q-
Lymphome des zones marginales (surtout la forme splénique)	CD22, CD11c fortement exprimé, CD43 et CD103 possibles CD25 plus rarement exprimé par rapport à la MW Anomalie cytogénétique avec 7q-, +3, +18, et +5
B-LLC	Fréquence des adénopathies plus élevée Lymphocytose constante. Aspect cytologique des lymphocytes, classiquement petit, mature, sans nucléole Présence de noyaux nus Lymphocytes CD19/CD5+ et CD23+, score de Matutes = 4 ou 5 Faible niveau d'expression de l'Ig de surface Anomalie cytogénétique avec 13q14- et +12 fréquente, 6q- rare Absence d'hypermutation des gènes Vh (30 % des cas)
Myélome multiple IgM	Aspect cytologique du clone constitue seulement de plasmocytes Présence d'autres signes de myélome, tels que lésions osseuses lytiques Marqueur CD38+ et CD138+ positif sur les plasmocytes Anomalie cytogénétique avec t(11;14) et 13q- plus fréquent
Lymphome du manteau	Localisations ganglionnaires et existence de localisations tumorales extranodales, ORL, tube digestif, cutané L'examen de la biopsie ganglionnaire ou autre matériel tumoral posera le diagnostic. Les cellules tumorales sont CD5+ Cytogénétique t(11;14)(q13;q32); hyperexpression de BCL1
Lymphome folliculaire	L'examen de la biopsie de la moelle osseuse ou autre matériel tumoral posera le diagnostic, infiltrat paratrabéculaire Infiltration par de petits lymphocytes, au rapport nucléocytoplasmique élevé, aux noyaux clivés, expression du CD10+ Cytogénétique t(14;18)(q32;q21); hyperexpression de BCL2

10-GAMMAPATHIE MONOCLONALE DE SIGNIFICATION INDÉTERMINÉE (MGUS) :

Robert Kyle a inventé le terme de gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS) en 1978 après l'observation que les patients asymptomatiques avec une protéine monoclonale (protéine M) avaient un risque plus élevé de développer un myélome multiple

(MM), une macroglobulinémie de Waldenström (WM), une chaîne légère amylose (AL) ou affections apparentées. La MGUS est un état précancéreux et le type de trouble plasmocytaire le plus courant. Étant donné que la transition de la MGUS à une affection maligne symptomatique est un processus évolutif, le diagnostic différentiel entre la MGUS et ces maladies est souvent difficile. La MGUS survient avant le myélome multiple et les directives actuelles recommandent que les patients qui reçoivent un diagnostic de MGUS fassent l'objet d'un suivi spécialisé et d'une surveillance annuelle, car le risque de progression vers le myélome est de 1 % par an et ne diminue pas avec le temps. Il existe trois types distincts de MGUS :

- MGUS non IgM : La MGUS non IgM (IgG, IgA, IgD) représente la majorité des cas de MGUS et se caractérise par un plasmocyte monoclonal.
- MGUS IgM
- MGUS à Chaîne légère

La MGUS non IgM peut évoluer vers une tumeur maligne des plasmocytes. La MGUS IgM peut évoluer vers une macroglobulinémie de Waldenström, une amylose à chaîne légère d'immunoglobuline (AL) ou un lymphome. MGUS (LC-MGUS) à chaîne légère est caractérisée par une protéine monoclonale dépourvue du composant de chaîne lourde d'immunoglobuline. La LC-MGUS peut montrer une progression vers une protéinurie de Bence Jones idiopathique, un myélome plasmocytaire à chaîne légère, une amylose AL ou une maladie par dépôt de chaîne légère. Selon une étude de cohorte basée sur la population, le risque de progression vers le myélome multiple chez les patients atteints de MGUS à chaîne légère est de 0,3 %.¹²⁹

10-1 Incidence :

Une gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS) est observée chez environ 2 % à 3 % des adultes de plus de 50 ans et chez 5 % des adultes de plus de 70 ans. La MGUS est plus fréquente chez les hommes que chez les femmes (1,5 : 1) et 2 à 3 fois plus fréquente chez les Afro-Américains que chez les Caucasiens. Les MGUS non IgM représentent jusqu'à 85 % des cas de MGUS ; IgM MGUS représente jusqu'à 15 % des cas de MGUS.¹³⁰

10-2 Physiopathologie :

Les événements responsables de la progression maligne de la MGUS ne sont pas bien compris. Les modifications génétiques, l'angiogenèse de la moelle osseuse, diverses cytokines liées au

myélome des os et éventuellement des agents infectieux peuvent tous jouer un rôle dans la progression de la MGUS vers le MM ou un trouble apparenté. Quatre événements précoces et partiellement chevauchants sont partagés par les tumeurs MGUS et MM, mais il n'est pas clair quels autres événements sont nécessaires pour la transition (TR1) vers une tumeur MGUS pré-maligne. Certains événements (par exemple, des anomalies caryotypiques) peuvent probablement survenir à n'importe quel stade de la pathogenèse, tandis que d'autres événements (par exemple, l'inactivation de p53) peuvent survenir principalement à des stades avancés de la progression tumorale. Deux événements (délétion chr13 et activation des mutations K-RAS) peuvent être associés à la transition (TR2) de MGUS à MM pour certaines tumeurs, tandis qu'un troisième événement (augmentation de l'expression de MYC et parfois réarrangements du locus MYC) peut être plus universellement impliqué dans cette transition. Notez que les réarrangements de MYC (Ig) peuvent également survenir en tant qu'événement de progression tardive. Voir le texte pour plus de détails. Une fois le clone MGUS établi, les bases moléculaires de sa progression vers une gammopathie monoclonale maligne restent mal comprises. Pour favoriser la progression vers une gammopathie monoclonale maligne. En ce sens, il est de plus en plus évident que la composante stromale du microenvironnement de la moelle osseuse (c'est-à-dire les cellules non tumorales fournissant des facteurs de croissance et de survie) joue un rôle important dans le développement des gammopathies monoclonales. À l'appui de cela, il a été démontré que l'angiogenèse de la moelle osseuse augmente de manière significative dans les stades avancés des gammopathies monoclonales de la MGUS au MM symptomatique.¹³¹

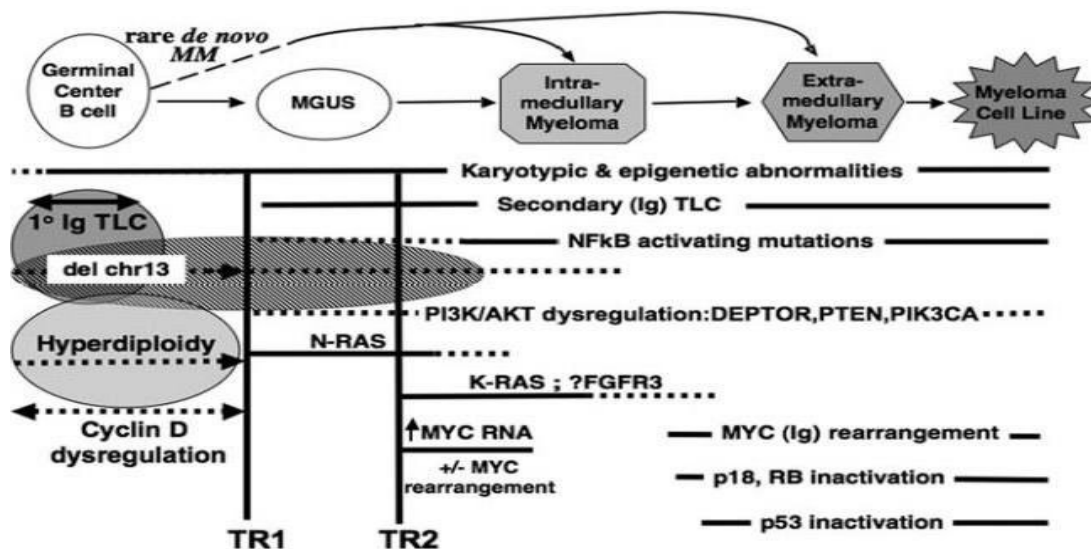


Figure 62: Pathogenèse du MGUS et Myélome multiple.

10-3 Présentation clinique :

Lorsqu'elle est découverte lors de l'évaluation d'un problème médical, la MGUS est généralement une découverte fortuite sans rapport. Les patients atteints de MGUS ont une taille de protéine M sérique inférieure à 3 g pour 100 ml et moins de 10 % de plasmocytes médullaires, et une zone symptomatique de leur gammopathie monoclonale avec des douleurs non osseuses ou de plasmocytomes extramédullaires. Des symptômes liés à l'anémie, l'hypercalcémie, l'échec rénal ainsi que des infections bactériennes récurrentes sont décrits dans la littérature.¹³²

10-4 Critères de Diagnostics :

La gammopathie monoclonale de signification indéterminée est généralement diagnostiquée après qu'un test sanguin de routine révèle un pic homogène à l'électrophorèse des protéines sériques. Lorsqu'elle est découverte lors de l'évaluation d'un problème médical, la MGUS est généralement une découverte fortuite sans rapport. Les patients atteints de MGUS ont une taille de protéine M sérique inférieure à 3 g pour 100 ml et moins de 10 % de plasmocytes de la moelle osseuse. D'autres examens pour poser un diagnostic et pour éliminer d'autres troubles plasmocytaires comme le myélome multiple. Ces épreuves peuvent comporter celles qui suivent : électrophorèse des protéines ; analyse d'urine ; dosage des chaînes légères libres sériques dosage des immunoglobulines (Ig) ; formule sanguine complète (FSC) ; analyses

biochimiques sanguines ; ponction et biopsie de la moelle osseuse ; radiographie de la plupart des os.¹³³

10-4-1 Cytologie :

Les patients atteints de MGUS ont une concentration sérique de protéines monoclonales inférieure à 3 g par décilitre, moins de 10 % de plasmocytes dans la moelle osseuse

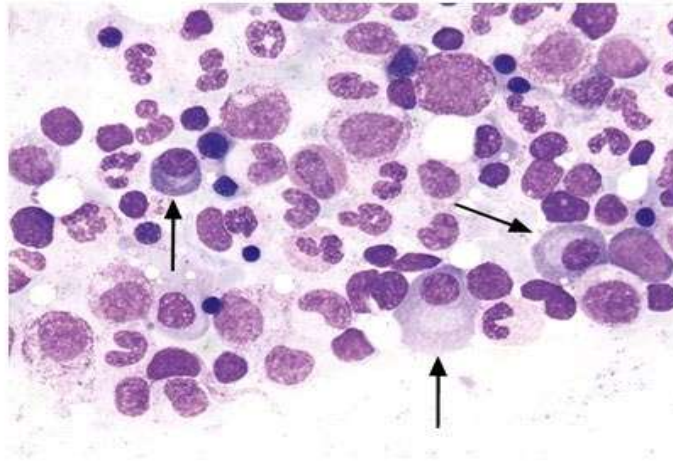


Figure 63: Spécimen de moelle osseuse d'un patient atteint de MGUS (coloration May-Grunwald-Giemsa).

10-4-2 Critères cytogénétiques et moléculaires :

Les translocations chromosomiques sont courantes, impliquant souvent des régions responsables du composant de chaîne lourde de l'immunoglobuline. La translocation la plus courante est t(11 ; 14) (q13 ; q32), une translocation entre le locus des chaînes lourdes d'Ig sur le chromosome 14 et le gène codant pour la cycline D1 sur le chromosome 11, qui a été démontrée chez 25 % des patients atteints de MGUS. Un dérèglement des protéines cycline D, impliqué dans la progression du cycle cellulaire, a également été noté chez les patients atteints de MGUS ainsi que les patients atteints de myélome multiple.¹³⁴

10-4-3 Immunophénotypage par cytométrie en flux :

Les plasmocytes clonaux chez les patients atteints de MGUS ont un profil phénotypique similaire à celui observé dans les plasmocytes myélomateux (CD38 +, CD56+ et CD19-), bien que la proportion de plasmocytes phénotypiquement normaux soit plus élevée chez les patients atteints de MGUS que chez ceux atteints de MM. En fait, il existe deux populations de plasmocytes chez les individus atteints de MGUS, l'une normale ou polyclonale (CD38+,

CD56- et CD19+) et l'autre clonale avec un phénotype anormal (CD38+, CD56+, CD19-). Dans une étude, la proportion de plasmocytes polyclonaux de la moelle osseuse, évaluée par quatre anticorps monoclonaux (CD38 ou CD138, CD56, CD19 et CD45), était le meilleur facteur unique pour distinguer la MGUS de la MM.¹³⁵

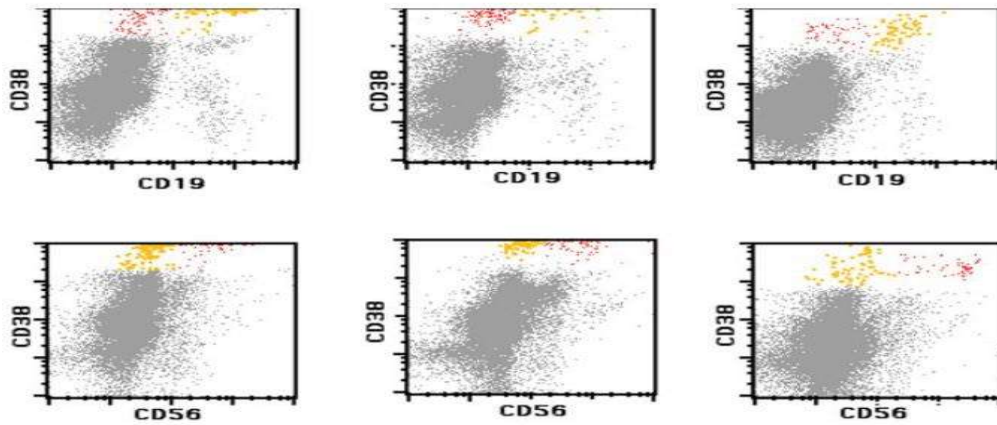


Figure 64: Comparaison de l'expression de CD19 et CD56 dans les plasmocytes de la gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS).

La rangée du haut montre l'expression de CD19 dans les plasmocytes polytypiques (jaunes) et néoplasiques (rouges) dans trois cas différents de MGUS. L'expression CD56 correspondante est démontrée dans la rangée du bas.

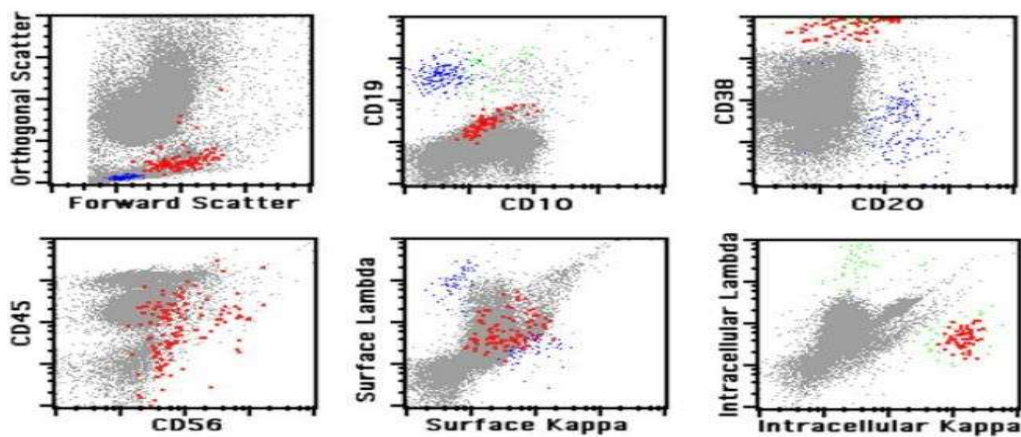


Figure 65: Analyse immunophénotypique de la gammopathie monoclonale de signification indéterminée.

Les plasmocytes néoplasiques sont surlignés en rouge ; les lymphocytes B matures sont peints en bleu et les plasmocytes polytypiques en vert.

10-4-4 Diagnostic différentiel :

La pathogenèse de la MGUS reste mal comprise. Les preuves suggèrent que le clone MGUS est déjà « malin » au moment de son apparition initiale. En effet, les plasmocytes clonaux des patients atteints de MGUS présentent un profil phénotypique similaire à celui des plasmocytes myélomateux (CD38+, CD56+ et CD19 -), bien que la proportion de plasmocytes phénotypiquement normaux soit plus élevée chez les patients atteints de MGUS que chez ceux atteints de myélome. Ainsi, il existe deux populations de plasmocytes chez les personnes atteintes de MGUS — l'une est normale et polyclonale (CD38+, CD56-, CD19+), et l'autre est clonale et a un immunophénotype anormal (CD38+, CD56+, CD19-). Dans un rapport, la proportion de plasmocytes de la moelle osseuse qui était polyclonale était le meilleur facteur unique pour distinguer entre la MGUS et le myélome multiple. Moins de 2 % des patients atteints de myélome avaient plus de 3 % de plasmocytes normaux, alors que 98 % des patients atteints de MGUS en avaient plus de 3 %.¹³⁶

Tableau 10: Critères de Diagnostic de différenciation entre MGUS, myélome multiple, macroglobulinémie de Waldenström et Amylose primaire

Variable	MGUS	Smoldering Multiple Myeloma	Multiple Myeloma	Waldenström's Macroglobulinemia	Primary Amyloidosis
Bone marrow plasma cells (%)	<10	≥10	≥10	>10†	<10
	and	and/or	and/or	and	and
Circulating monoclonal protein (g/dl)	<3	≥3	≥3	>3	<3
Clinical manifestations	Absent	Absent	Present‡	Present§	Present¶

11-MALADIE DES CHAINES LOURDES :

Les maladies des chaînes lourdes (MCL) sont des troubles rares de la prolifération des cellules lymphoplasmatiques des lymphocytes B, caractérisés par la production de chaînes lourdes d'immunoglobulines monoclonales tronquées sans chaînes légères associées. Les MCL impliquant les trois principales classes d'immunoglobulines ont été décrites ; la MCL- α est la plus courante et a la présentation la plus uniforme, les MCL γ et μ ont des présentations cliniques et des caractéristiques histopathologiques variables. Les MCL peuvent être considérés

comme des types variés de lymphomes non hodgkinien : la MCL- α se présente comme un lymphome extraganglionnaire de la zone marginale du tissu ganglionnaire associé aux muqueuses, la MCL- γ comme un lymphome non hodgkinien lymphoplasmacytoïde et la MCL- μ comme un petit lymphome non hodgkinien ou leucémie lymphoïde chronique. Le diagnostic de MCL nécessite la documentation d'une chaîne lourde d'immunoglobuline supprimée sans chaîne légère liée dans le sérum ou l'urine. Le pronostic est variable, et aucun programme de traitement efficace standardisé n'est disponible, à l'exception de la MCL- α , qui, à ses débuts, peut répondre aux antibiotiques.¹³⁷

11-1 Maladie des chaînes lourdes alpha :

11-1-1 Incidence :

Depuis la première description d'une maladie des chaînes lourdes (MCL) en 19681, plus de 400cas ont été rapportés. La majorité des patients viennent d'Afrique du Nord, du Moyen-Orient ou de la Méditerranée, et moins de patients d'Afrique centrale et australe, d'Asie de l'Est et d'Amérique du Sud et centrale. La prévalence est légèrement plus élevée chez les hommes que chez les femmes. La MCL a une prédilection pour les groupes d'âge jeunes ; la plupart des patients ont entre 20 et 30 ans.¹³⁸

11-1-2 Pathogenèse :

On pense que la stimulation antigénique chronique par les organismes intestinaux joue un rôle dans le développement d'une MCL- α . Une relation causale entre l'infection et la pathogenèse est corroborée par l'observation selon laquelle une MCL peut répondre aux antibiotiques à large spectre. Cependant, aucun micro-organisme spécifique n'a été documenté dans les études cliniques. Hypothèse argumentée notamment par la présence de *Campylobacter jejuni* retrouvé dans les lésions de la grêle chez certains de ces patients, la MCL α est décrite alors sous le nom de « maladie immuno-proliférative de l'intestin grêle »¹³⁹. L'Ig tronquée est diminuée de moitié par rapport à une chaîne lourde α normale. L'étude en biologie moléculaire de la séquence de l'ARNm impliquée dans la production de la chaîne α issue des ganglions mésentériques, révèle une délétion des segments VH et CH1. Cette délétion au niveau CH1, empêche la fixation de la chaîne légère à la chaîne lourde mais aussi à la protéine de choc thermique, empêchant alors sa dégradation dans le protéasome. Cette délétion est retrouvée chez tous les patients.¹⁴⁰

11-1-3 Présentation clinique :

La plupart des patients atteints de MCL α présentent la forme digestive. La maladie se caractérise par une malabsorption qui se manifeste par une diarrhée, une perte de poids et des douleurs abdominales. À l'examen physique, l'ascite, la tétanie, l'œdème ne sont pas rares. L'hépatosplénomégalie et la lymphadénopathie périphérique sont rares. L'aménorrhée, l'alopecie et le retard de croissance chez les enfants et les adolescents sont en corrélation avec la durée et la sévérité du processus de malabsorption. La MCL α peut être limitée aux voies respiratoires, mais cette forme respiratoire est extrêmement rare, tout comme une forme lymphomateuse caractérisée par une lymphadénopathie systémique. Une MCL α a été rapportée chez un patient présentant un goitre provenant d'un plasmocytome de la thyroïde.¹⁴¹

11-1-4 Critères de Diagnostic :

- Cytologie :

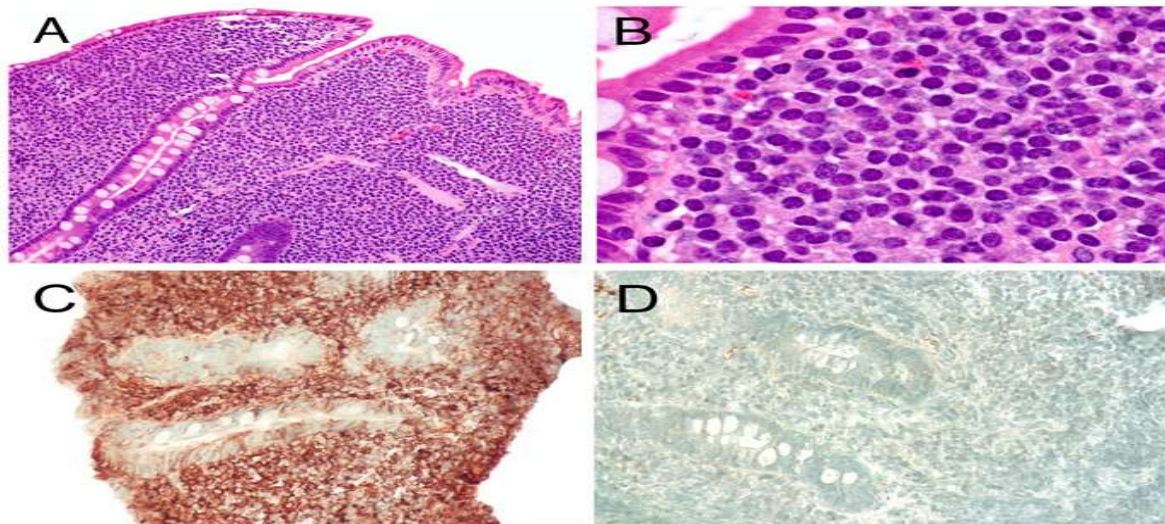


Figure 66 : Présentation histologique de la maladie de chaînes lourdes alpha

A : Biopsie duodénale chez un patient atteint d'alpha HCD montre une infiltration lymphocytaire dense de la lamina propria, associée à l'émoussement des structures villosités et à la propagation des cryptes. B : Une vue à plus fort grossissement de l'échantillon pathologique dans A, montre que l'infiltrat lymphocytaire est principalement composé de plasmocytes atypiques avec un cytoplasme éosinophile rose relativement abondant caractéristique, des noyaux excentriques et une chromatine dispersée. Lors de la coloration immunohistochimique

(IHC), les plasmocytes sont largement positifs pour les IgA (C) et négatifs pour les IgM (D), distinguant l'infiltrat alpha HCD du MALT classique.

- Anomalies hématologiques et métaboliques :

Une anémie légère à modérée est souvent retrouvée. L'hypokaliémie, l'hypocalcémie, l'hypomagnésémie et l'hypoalbuminémie sont fréquentes. Le taux de phosphatase alcaline peut être augmenté en raison d'une augmentation de la fraction d'isoenzyme intestinale. Les résultats des tests pour indiquer la malabsorption sont généralement positifs. L'infestation parasitaire est courante.

- Imagerie :

Les résultats radiographiques anormaux de l'intestin grêle comprennent des plis muqueux hypertrophiques et pseudopolypoïdes, parfois associés à des sténoses et à des défauts de remplissage. L'étendue de la maladie doit être évaluée par tomодensitométrie. Les évaluations échographiques en série sont utiles pour suivre les patients en cas de développement d'une lymphadénopathie abdominale et d'un épaissement de la paroi intestinale.

Les lésions intestinales endoscopiques de la MCL α affectent presque toujours le duodénum et le jéjunum, et par conséquent l'endoscopie avec biopsie est un outil utile dans le bilan des patients chez qui on suspecte un DHC. Cinq modèles endoscopiques primaires ont été définis. Le modèle infiltré est la constatation la plus spécifique, suivi du modèle nodulaire. Les autres lésions primaires (ulcérations, modèle en mosaïque et épaissement du pli muqueux seul) sont non spécifiques

- Protéines :

L'analyse immunoélectrophorétique du sérum est un élément essentiel du Diagnostic. Chez la plupart des patients, la protéine MCL α peut être trouvée dans le sérum. Dans environ la moitié des cas, une bande large anormale est trouvée dans la région α_2 -ou β -globuline, qui est probablement liée à la polymérisation des chaînes α . Dans l'autre moitié des cas, l'électrophorèse des protéines sériques ne montre aucune preuve d'une protéine anormale. L'identification de la protéine MCL α dépend de l'immunoélectrophorèse sérique, de l'immunosélection ou de l'immunofixation. La protéine pathologique peut échapper à la détection par immunoélectrophorèse lorsque sa concentration sérique est faible. La quantité de chaînes anormales dans les sérums semble être liée à la nature des cellules prédominantes de la

muqueuse intestinale ou des ganglions lymphatiques mésentériques. Au cours de l'évolution de la maladie, la diminution progressive des plasmocytes matures et leur remplacement par des immunoblastes immatures sont probablement suivis d'une diminution progressive de la concentration sérique de la protéine MCL α . Une hyposécrétion de protéine MCL α peut également être observée au stade précoce de la maladie. Dans la plupart des cas, la protéine MCL α est également trouvée dans les sécrétions jéjunales lorsque sa présence est documentée dans le sérum. La concentration de la protéine MCL α dans l'urine est faible. ¹⁴²

11-2 Maladie des chaînes lourdes γ :

11-2-1 Incidence :

La MCL γ est la première MCL décrite par Franklin en 1964, on ne retrouve depuis qu'environ 130 cas à travers le monde qui ont été décrits dans la littérature. Il ne semblait pas y avoir de différence au niveau du sex-ratio jusqu'à 2003, une série présentée par Dietling et Wahner vient démontrer une nette prédominance féminine. La MCL γ fut rapporté chez des adultes d'âge moyen jusqu'à très âgés, elle peut cependant survenir chez des sujets jeunes, parfois avant 20 ans, sans prédisposition ethnique. ¹⁴³

11-2-2 Pathogénèse :

La pathogénèse de MCL γ reste inconnue, on l'associe souvent à une maladie lymphoproliférative ou une maladie auto-immun. La polyarthrite rhumatoïde est le plus fréquemment signalée, mais on retrouve aussi des manifestations auto-immunes à type purpura thrombopénique idiopathique, anémie hémolytique auto-immune, vascularite, lupus, syndrome de Gougerot-Sjögren. La question qui se pose si cette protéine anormale peut induire une maladie auto-immun ou une la maladie auto-immun peut engendrer une MCL γ . La MCL γ fut aussi associé à une maladie lymphoproliférative localisée à la moelle osseuse. ¹⁴⁴

11-2-3 Présentation clinique :

En cas de maladie lymphoproliférative disséminée :

La maladie lymphoproliférative disséminée est présente chez la plupart des patients au moment du diagnostic et a été rapportée chez 57 à 66 % des patients dans diverses séries. Les symptômes sont les caractéristiques habituelles. À l'examen physique au moment du diagnostic dans deux séries différentes, une lymphadénopathie, une splénomégalie et une hépatomégalie.

En cas de maladie proliférative localisée :

Chez environ 25 % des patients atteints de MCL γ , le processus lymphoprolifératif est localisé. La maladie localisée peut être extramédullaire ou impliquer uniquement la moelle osseuse. L'atteinte cutanée est la présentation extramédullaire la plus fréquemment rapportée. Des patients présentant un plasmocytome extramédullaire de la thyroïde ou de la parotide ou une masse oropharyngée ont été décrits.

Si aucune maladie proliférative n'est apparente :

Aucune maladie lymphoplasmocytaire proliférative n'est apparente chez 9 à 17 % des patients atteints de MCL γ . Chez la plupart de ces patients, une maladie auto-immune sous-jacente a été rapportée. Les maladies auto-immunes avec ou sans prolifération lymphoïde sous-jacente comprennent la polyarthrite rhumatoïde, les cytopénies auto-immunes (anémie hémolytique ou purpura thrombocytopénie), le lupus érythémateux, le syndrome de Sjögren, la myasthénie grave, la thyroïdite et la vascularite.¹⁴⁵

11-2-4 critères diagnostique :

- Cytologie :

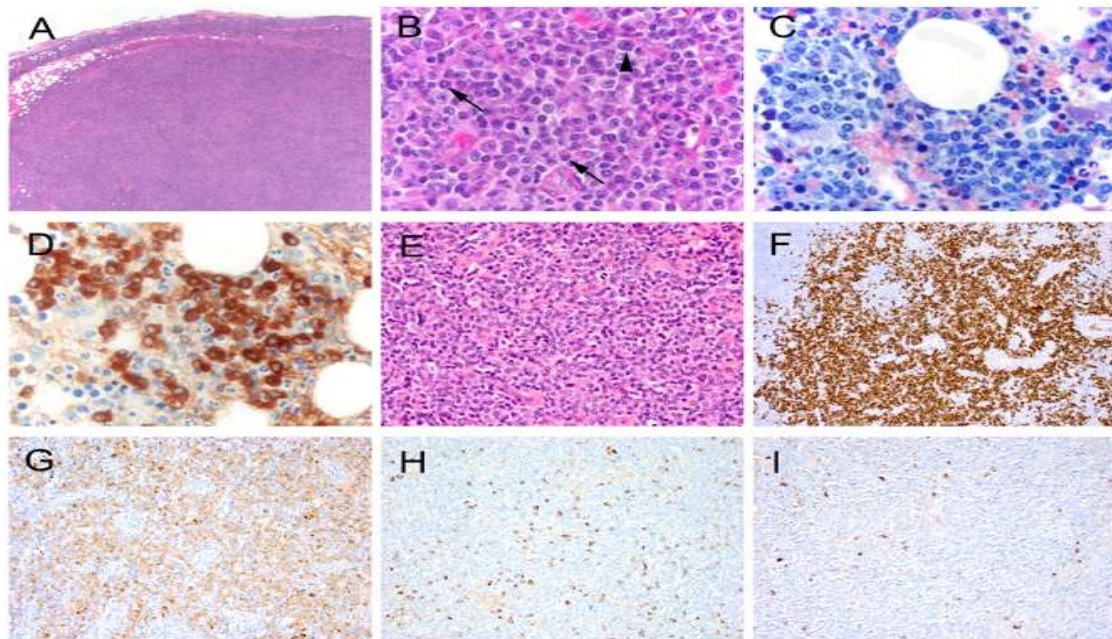


Figure 67 : Présentation histologique la maladie des chaînes lourdes gamma

A : Biopsie de ganglion lymphatique d'un patient atteint de gamma HCD caractérisé par un infiltrat polymorphe de petits lymphocytes matures et plasmacytoïdes, ainsi que de plasmocytes. B : Specimen pathologique dans A décrivant une cellule de taille moyenne à

grande avec des noyaux éosinophiles proéminents, compatibles avec un immunoblaste (tête de flèche) et deux plasmocytes matures (flèches). C-D : Coloration Wright's-Giemsa d'une biopsie de la moelle osseuse d'un patient atteint d'une HCD gamma met en évidence un infiltrat lymphoplasmocytaire, coloration IHC positive pour les IgG. E-I : Biopsie de ganglion lymphatique d'un patient atteint d'une HCD gamma montrant un infiltrat lymphoplasmocytaire (E), qui se colore positif pour CD138 (F) et IgG (G), mais négatif pour κ (H) et λ .

- Anomalies hématologiques :

L'anémie est fréquente. Il est généralement normochrome, normocytaire et modéré. Une anémie hémolytique auto-immune positive de Coombs a été rapportée dans plusieurs cas et peut être associée à un purpura thrombocytopénie idiopathique. La numération leucocytaire totale et différentielle est généralement normale. Une lymphocytose peut survenir et un patient présente occasionnellement une leucémie lymphoïde chronique. Dans certains cas, de rares lymphocytes plasmacytoïdes ou plasmocytes circulants ont été notés. Une leucémie plasmocytaire a été rapportée chez deux patients. Les aspirats de moelle osseuse et les échantillons de biopsie peuvent montrer une augmentation des plasmocytes, des lymphocytes ou des lymphocytes plasmacytoïdes, similaire aux résultats de la moelle osseuse dans la macroglobulinémie de Waldenström, les caractéristiques typiques du myélome multiple ou de la leucémie lymphoïde chronique sont rares.

- Protéines :

L'électrophorèse des protéines sériques ne suggère pas toujours une gammopathie monoclonale. Un pic monoclonal peut être détecté chez 60 à 86 % des patients. Lorsqu'il est présent, il se situe le plus souvent dans la région b1orb2. La valeur médiane du pic monoclonal au diagnostic chez 19 patients était de 1,59 g/dL (intervalle de 0,40 à 3,91 g/dL). Le diagnostic est établi par immunofixation ou immunoélectrophorèse du sérum ou d'un échantillon d'urine concentré. Une technique d'immunosélection modifiée pour le diagnostic du HCD a été décrite. La quantité de protéine HCD dans l'urine est généralement faible (1 g/24 heures) mais peut atteindre 20 g/24 heures. Un patient occasionnel avec la protéinurie de Bence Jones a été décrit.¹⁴⁶

11-3 Maladie des chaînes lourdes μ :

11-3-1 incidence :

C'est la forme la moins fréquente des MCL. Elle a été découverte de façon concomitante par deux équipes aux Etats Unis en 1970, celle du Dr Ballard du département d'hématologie et celle du Dr Forte, étudiant en hématologie, tous deux de New York.¹⁴⁷ Les cas décrits concernaient des hommes entre cinquante et soixante ans, présentant des douleurs et raideurs articulaires. Depuis, on dénombre moins d'une cinquantaine de cas rapportés dans la littérature (en 2016). Bien qu'aucune cause n'ait pu être mise en évidence à ce jour, les cas analysés sont en majorité des hommes d'âge médian entre 15 à 80 ans, issus surtout des pays développés.¹⁴⁸

11-3-2 Pathogenèse :

La cause de la MCL μ reste inconnue. Dans un tiers des cas, une association avec d'autres hémopathies est présente avec notamment une lymphoprolifération de type LLC ou un lymphome lymphocytaire, soit une incidence de moins de 1 % chez les patients atteints de LLC.¹⁴⁹ Les autres associations retrouvées sont : lymphome lymphoplasmocytaire, gammopathie monoclonale de signification indéterminée, myélome multiple, amylose, syndrome myélodysplasique, lymphome B diffus à grandes cellules. Dans une revue de la littérature incluant 27 cas documentés de MCL μ , 22 patients (81%) avaient un trouble associé de la prolifération des cellules lymphoplasmatiques désigné leucémie lymphoïde chronique, lymphome, maladie de Waldenström, ou myélome. On retrouve également des pathologies non hématologiques associés ; cirrhose hépatique ou lupus. La survenue d'une polyarthrite rhumatoïde au cours de cette affection est fréquente. A la différence des autres classes de MCL, certains cas avaient conservé une région constante CH1. Des données génétiques du gène codant pour la protéine μ ont permis de constater des anomalies au niveau de la région VDJ, ce qui entraînerait une délétion de quelques acides aminés au niveau du premier domaine constant (CH1) suffisant pour empêcher l'assemblage des chaînes légères sur la chaîne lourde μ .¹⁵⁰

11-3-3 Présentation clinique :

La clinique de ces cas était en lien avec, la maladie associée : il a été constaté de façon quasi constante une splénomégalie, dans 75% des cas une hépatomégalie, des adénopathies périphériques et des lésions lytiques osseuses dans 40%. Des fractures pathologiques sont décrites dans quelques cas, essentiellement sur le squelette axial. Au niveau biologique, on

retrouve communément une anémie peu régénérative, en rapport avec l'infiltration de la moelle osseuse qui peut s'accompagner d'une thrombopénie et d'une hyperlymphocytose notamment dans les cas associés à la LLC. Des lésions osseuses lytiques ou ostéoporose surviennent chez une minorité de patients et ont été décrites chez trois patients sur 15. Trois cas de MCL non sécrétoire ont été rapportés ; Les chaînes lourdes ont été documentées par immunofluorescence à la surface cellulaire des lymphocytes en prolifération dans un cas et dans les plasmocytes de la moelle osseuse des deux autres.¹⁵¹

11-3-4 Critères de Diagnostic :

- Cytologie :

La réalisation d'un myélogramme pourra mettre en évidence une infiltration lymphoplasmocytaire avec des plasmocytes qui vont montrer des caractéristiques particulières ; ils vont présenter des vacuoles dans leur cytoplasme avec des marqueurs associés à des antisérums a permis de souligner le fait qu'il s'agissait d'un seul clone cellulaire impliqué (contenant, paradoxalement, à la fois la chaîne lourde μ avec ou sans une chaîne légère κ) et la microscopie électronique a révélé les interactions avec les organites cellulaires proches, notamment l'appareil de Golgi.

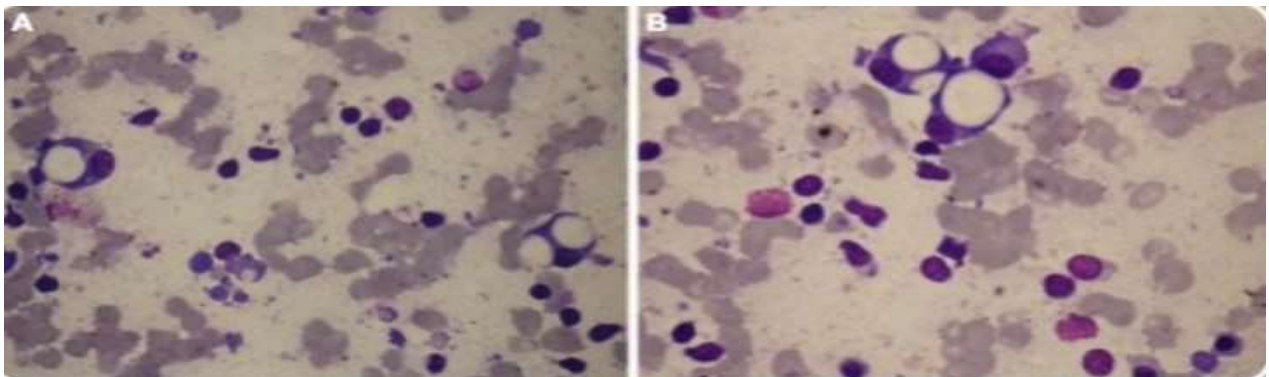


Figure 68: Caractéristiques morphologiques de la MCL μ : des plasmocytes vides

- Protéines :

La protéinurie de Bence Jones sans atteinte rénale (manifeste) a été trouvée dans plus de la moitié des cas de MCL μ . La recherche d'un composant monoclonal de fragments de la chaîne lourde M dans le sérum est indétectable par électrophorèse des protéines sériques dans 75 % des cas, un pic monoclonal a été trouvé sur l'électrophorèse de routine des protéines sériques chez les 25% des cas restants d'une série de patients atteints de m-HCD. Trois des 33 patients

atteints de MCL μ avaient une gammopathie biclonale. Une hypogammaglobulinémie a été notée chez 10 des 22 patients. Une hypergammaglobulinémie avec un profil polyclonale dans la fraction g-globuline a été décrite dans un cas.

11-4 Maladie de chaînes lourdes δ :

Un seul cas de MCL δ a été décrit. Le malade, un homme âgé de 70 ans, présentait un tableau clinique semblable à celui d'un myélome multiple. Il avait une forte plasmocytose médullaire et des lésions ostéolytiques du crâne. Une petite quantité de composant monoclonal, évidente sur l'électrophorèse des protéines sériques, réagissait avec un antisérum anti-IgD mono spécifique mais non avec les autres antisérums de spécificité anti-chaîne légère ou lourde. Il n'y avait pas de protéinurie. Il est décédé suite à l'évolution d'une insuffisance rénale.¹⁵²

Tableau 11: Description des différentes maladies de chaînes lourdes

	MCL α	MCL γ	MCL μ	MCL δ
Année première description	1968	1964	1970	1980
Cas publiés	400	130	50	1
Pathologie associée	Lymphome Malt digestif	MGUS-lymphome agressif	LLC atypique	Myélome
Présentation Âge Sexe, ratio Région Clinique	< 30 ans = Méditerranée Douleurs abdominales, syndrome de malabsorption	60-70 ans plus de femmes - Signes généraux, splénomégalie, adénopathies	50-60 ans plus d'hommes - Adénopathies profondes, hépato- splénomégalies, lésions osseuses lytiques	70 ans homme Finlande Myélome
Histologie	Infiltration jéjunale par cellules plasmocytoides, atteinte ganglion mésentérique	Infiltrat polymorphe : lymphocytes, plasmocytes, éosinophiles	Plasmocytes vacuolaires sur myélogramme	
EPS	N dans 50 % Bande large en $\alpha 2/\beta$ 50 %	Pic à base élargie en γ Possible biclonale	N ou hypogamma	Mobilités en $\beta 2$ et γ
IF	Réaction avec anti IgA, pas de CLL α IgA1	Fragment de chaînes lourdes Gamma IgG1 > IgG3 > IgG4 > IgG3	Fragment de chaînes lourdes μ IgM	Delta IgD
Protéinurie Chaînes lourdes BJ	- Rare -	> 1 g Possible -	Chaînes légères Très rare +	- - -
Analyse moléculaire	DelVH et CHI	Del fin VH et CHI	DelVDJ	-
Particularité	Présence dans liquides	Pathologie auto immune	Néphropathie, amylose lésions os	Dépôt IgD sous endothéliaux de la MBG

11-5 Immunophénotypage par cytométrie en flux :

Tableau 12 : Caractéristiques immunophénotypiques des cellules des maladies des chaînes lourdes

	Heavy chain	Cell phenotypes
α -HCD	IgA	pan-B-cell antigens+ CD138+ CD5- CD10- CD20-
γ -HCD	IgG	CD19+ CD20+ Mum1/IRF4+ CD38+ CD138+ CD5- CD10-
μ -HCD	IgM	CD19+ CD20+ CD38+ k light chain+ (rare) CD5+ (rare)

12- LE MYELOME MULTIPLE :

Le myélome multiple (MM), bien qu'il s'agisse d'une maladie rare, est la deuxième maladie hématologique maligne la plus courante. On le trouve dans le spectre des dyscrasies plasmocytaires qui commencent par gammopathie monoclonale de signification indéterminée à la leucémie plasmocytaire et myélome extramédullaires. Le MM est associé à une morbidité importante en raison de la destruction de ses organes cibles. Améliorations dans le traitement du MM dans le passé quelques décennies, en commençant par l'utilisation de la greffe de cellules souches autologues suivie de disponibilité de nouveaux traitements tels que les médicaments immunomodulateurs et les inhibiteurs du protéasome a transformé l'histoire naturelle de la maladie, entraînant des temps de survie plus longs.

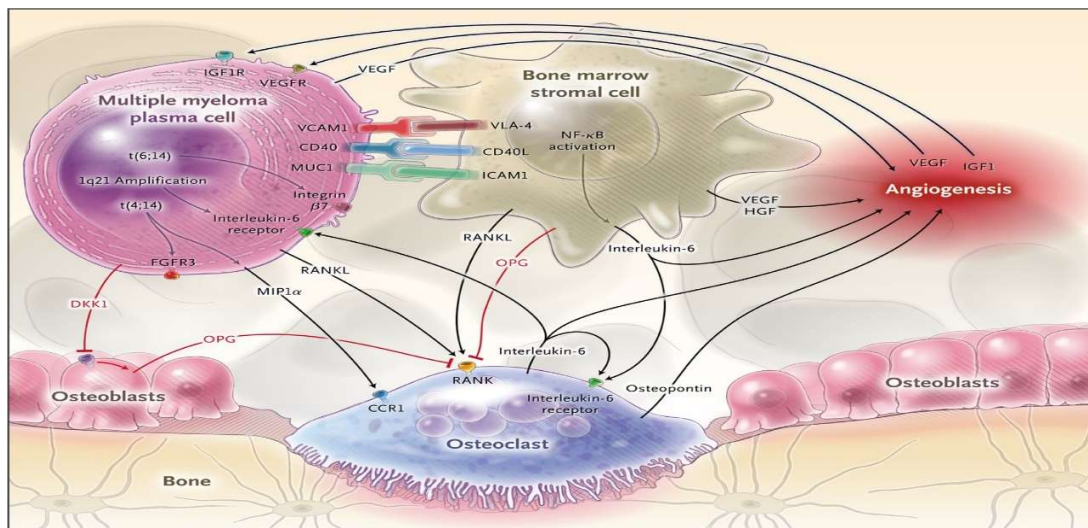
12-1 Incidence :

Le MM représente 1% de tous les cancers et est la 2ème tumeur maligne hématologique la plus fréquente après le lymphome avec environ 24 2802 à 30 330 nouveaux cas et 12 650 décès à venir pour 2016. La prévalence mondiale estimée sur 5 ans est d'environ 230 000 patients. L'âge médian des patients au moment du diagnostic est d'environ 66-70 ans avec 37% des patients âgés de moins de 65 ans. Le MM est extrêmement rare chez les moins de 30 ans avec une fréquence rapportée de 0,02 % à 0,3 % et semble se produire légèrement plus fréquemment chez les hommes. En général, le MM n'est pas considéré comme une maladie génétique,

cependant des cas familiaux, quoique rares, existent. Il a été rapporté que la survie médiane chez les patients avant 2000 était de 12 mois contre 24 mois après 2000.

12-2 Pathogenèse :

Le myélome résulte d'une prolifération précancéreuse asymptomatique de plasmocytes monoclonaux dérivés de cellules B post-centre germinatif. Des changements génétiques et micro environnementaux en plusieurs étapes conduisent à la transformation de ces cellules en un néoplasme malin. On pense que le myélome évolue le plus souvent à partir d'une gammopathie monoclonale de signification clinique indéterminée (généralement connue sous le nom de MGUS) qui évolue vers un myélome latent et, enfin, vers un myélome symptomatique. Plusieurs anomalies génétiques qui surviennent dans les plasmocytes tumoraux jouent un rôle majeur dans la pathogenèse du myélome. Les translocations chromosomiques précoces primaires se produisent dans la région de commutation des immunoglobulines sur le chromosome 14 (q32.33), qui est le plus souvent juxtaposée à MAF (t [14 ; 16] [q32.33 ; 23]) et MMSET sur le chromosome 4p16.3. Les anomalies génétiques modifient l'expression des molécules d'adhésion sur les cellules de myélome, ainsi que les réponses aux stimuli de croissance dans le microenvironnement. Les interactions entre les cellules de myélome et les cellules de la moelle osseuse ou les protéines de la matrice extracellulaire qui sont médiées par les récepteurs de la surface cellulaire) augmentent la croissance tumorale, la survie, la migration et la résistance aux médicaments.¹⁵³



12-3 Présentation clinique :

La présentation clinique du myélome multiple peut être extrêmement variée. Les complications classiques sont souvent abrégées en acronyme « CRAB » : elles consistent en une hypercalcémie, une insuffisance rénale, une anémie et des lésions osseuses. Une combinaison de ces symptômes devrait accroître la suspicion Diagnostic de myélome. L'anémie est présente chez environ 70 % des personnes atteintes d'un myélome nouvellement diagnostiqué.¹ Les patients présentant une anémie importante peuvent présenter une fatigue, une dyspnée à l'effort ou une angine de poitrine. Alternativement, une anémie asymptomatique, mais persistante, peut être détectée sur des analyses sanguines de routine. L'anémie du myélome multiple est généralement normochrome et normocytaire, mais une macrocytose légère peut également être observée. L'hypercalcémie est une manifestation moins fréquente du myélome au moment du diagnostic, survenant chez environ 13 % des patients.² La calcémie doit toujours être interprétée après correction pour l'albumine. L'hypercalcémie symptomatique peut se présenter de façon dramatique avec confusion, désorientation, faiblesse musculaire, constipation, anorexie, polyurie et polydipsie. Des élévations profondes du calcium sérique peuvent rarement conduire à un coma ou à une arythmie cardiaque. Une insuffisance rénale survient chez 20 à 40 % des patients nouvellement diagnostiqués atteints de myélome et est généralement due à un dépôt de chaînes légères dans les tubules rénaux distaux et collecteurs ou à une hypercalcémie. Elle est le plus souvent détectée comme une élévation asymptomatique de la créatinine sérique, mais les patients peuvent rarement présenter avec oligurie ou urémie. La douleur osseuse est un symptôme relativement courant, en particulier le mal de dos, survenant chez jusqu'à 58 % des patients. Les lésions lytiques sont détectables chez près de 80 % des patients au moment du diagnostic.¹⁵⁴

12-4 Critères de Diagnostic :

Le myélome multiple latent est caractérisé par une paraprotéine sérique > 30 g/L ou une plasmocytose médullaire > 10 %. L'évaluation d'un patient suspecté de myélome multiple consiste à établir la preuve d'une paraprotéine monoclonale par électrophorèse sérique (EPG) et immunofixation, ainsi qu'une analyse FLC. L'EPG sérique établit la présence d'une bande monoclonale, tandis que l'immunofixation augmente la sensibilité Diagnostic à 93 % et détermine la nature précise de la paraprotéine, par exemple, si elle appartient à la classe IgA ou

IgG et si elle implique les chaînes légères kappa ou lambda. Le myélome multiple IgM est une entité très rare et la présence d'une paraprotéine IgM doit faire suspecter la maladie apparentée macroglobulinémie de Waldenström/lymphome lymphoplasmocytaire. Examen de la moelle osseuse (biopsie au trépan plus aspiration pour analyse cytogénétique ou hybridation in situ en fluorescence [FISH]). La radiographie conventionnelle de la colonne vertébrale, du crâne, du thorax, du bassin, des humérus et des fémurs reste la norme pour identifier les lésions osseuses liées au myélome.¹⁵⁵

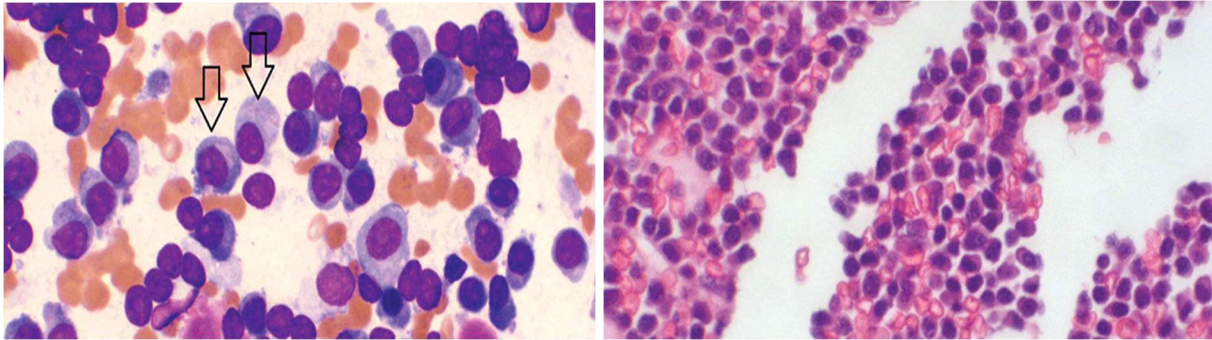


Figure 69: A aspiration de moelle osseuse montrant un nombre accru de plasmocytes, y compris des formes volumineuses et immatures (flèches). B biopsie par trépanoponction médullaire montrant une infiltration de plasmocytes malins.

- Immunophénotypage par cytométrie en flux :

L'immunophénotypage par cytométrie en flux a été largement utilisé pour identifier les populations de plasmocytes néoplasiques chez les patients myélome multiple (MM). Les marqueurs associés à profils d'expression antigénique aberrants informatifs pour le MM selon les directives du Réseau Européen du Myélome (EMN) sont : CD19, CD56, CD45, CD38, CD27, CD20, CD28, CD33, CD117 et dans une moindre mesure aussi CD81 et CD200. Les deux marqueurs phénotypiques caractéristiques de la lignée plasmocytaire sont CD38 et CD138. En association avec l'immunoglobuline cytoplasmique (cytIg) KAPPA et coloration des chaînes légères LAMBDA, ils contribuent à établir le caractère clonal d'une population de suspects de plasmocytes.¹⁵⁶

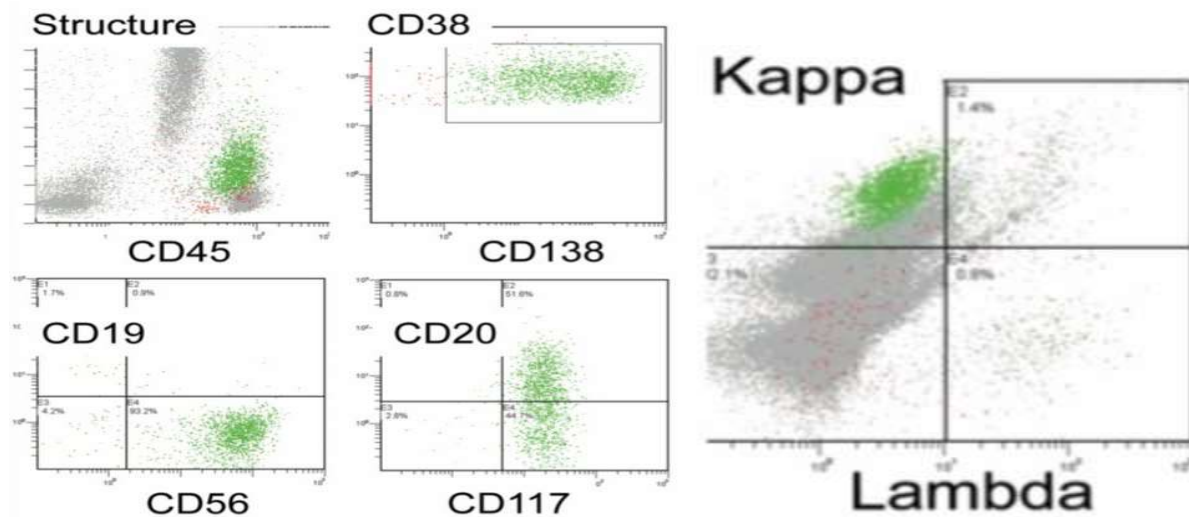


Figure 70: Profile immunophénotypique de plasmocytes du Myélome multiple.

13- PLASMOCYTOME SOLITAIRE :

Les hémopathies plasmocytaires, dont le plasmocytome solitaire, représentent 1 à 2 % de l'ensemble des néoplasies humaines, elles sont caractérisées par la prolifération d'un seul clone de plasmocytes, produisant une immunoglobuline monoclonale, elles peuvent se présenter sous la forme d'une lésion unique (plasmocytome solitaire) ou de lésions multiples (myélome multiple). Le plasmocytome solitaire est une maladie rare caractérisée par une prolifération localisée de plasmocytes monoclonaux néoplasiques, sans signe de maladie systémique. Il peut être subdivisé en plasmocytome osseux solitaire si la lésion prend naissance dans l'os, ou en plasmocytome extramédullaires solitaire si la lésion implique un tissu mou. L'incidence du plasmocytome osseux solitaire est plus élevée que celle du plasmocytome extramédullaires solitaire. De plus, le pronostic est différent : même si les deux formes répondent bien au traitement, la survie globale et la survie sans progression du plasmocytome osseux solitaire sont plus faibles que le plasmocytome extramédullaires solitaire en raison de son taux d'évolution plus élevé dans le myélome multiple.¹⁵⁷

13-1 Pathogénèse :

Un plasmocytome peut survenir dans n'importe quelle partie du corps. Un plasmocytome osseux solitaire (SBP) provient des plasmocytes situés dans la moelle osseuse, tandis qu'un plasmocytome extramédullaire (EMP) est supposé provenir des plasmocytes situés dans les

surfaces muqueuses. Les deux représentent un groupe différent de néoplasmes en termes de localisation, de progression tumorale et de taux de survie global. Certains auteurs suggèrent que les SBP représentent des lymphomes à cellules marginales avec une différenciation plasmocytaire étendue. Cependant, la SBP et le plasmocytome extramédullaire (EMP) partagent de nombreuses caractéristiques biologiques d'autres troubles des plasmocytes. Les études cytogénétiques montrent des pertes récurrentes dans le chromosome 13, le bras chromosomique 1p et le bras chromosomique 14q, ainsi que des gains dans les bras chromosomiques 19p, 9q et 1q. L'interleukine-6 (IL-6) est toujours considérée comme le principal facteur de croissance dans la progression des troubles des plasmocytes. Les rôles spécifiques des marqueurs de surface, des molécules d'adhésion et de l'angiogenèse dans le plasmocytome solitaire doivent être étudiés plus avant. Dans une étude de Kumar et al, l'angiogenèse de haut grade dans la SBP a été associée à une progression accrue vers le myélome multiple et à une survie sans progression plus courte. Certains ont postulé que Le PSB peut être considérée comme une étape intermédiaire dans l'évolution de la gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS) au myélome multiple (MM).¹⁵⁸

13-2 Plasmocytome solitaire osseux

13-2-1 Incidence :

Le SPB est peu fréquente, représentant 3 à 7 % de tous les plasmocytomes. L'âge médian du PSO est de 55 ans et concerne les os du squelette axial (vertèbre, crâne) ; l'atteinte du squelette appendiculaire distal sous le coude et le genou est rare. Le SPB a un risque significativement élevé de progression vers le MM (65 à 84 % en 10 ans). La localisation vertébrale est la plus fréquente. Le SPB peut aussi atteindre les côtes, le sternum, l'os iliaque et les os longs.¹⁵⁹

13-2-2 Présentation clinique :

Certains patients atteints de myélome plasmocytaire présentent une seule lésion osseuse causée par un infiltrat de plasmocytes monoclonaux et sans signe de myélome autre part. Le symptôme à la présentation est une douleur au site de la lésion squelettique. Les patients avec atteinte vertébrale peuvent présenter des symptômes et des signes de moelle épinière ou compression des racines nerveuses. Les patients présentant une atteinte des os longs peuvent se présenter avec une fracture pathologique. Les patients occasionnels atteints de SPB peuvent présenter une polyneuropathie périphérique, ou présentant des caractéristiques compatibles avec le

syndrome POEMS (polyneuropathie, organomégalie, endocrinopathie, protéine M et modifications de la peau). Cette tumeur peut toucher n'importe quel os, mais le plus souvent elle survient dans une vertèbre.¹⁶⁰

13-2-3 Critères de Diagnostic :

Le critère de différenciation pour la SBP et l'EMP du myélome est l'absence de caractéristiques CRAB (augmentation du calcium, insuffisance rénale, anémie ou lésions osseuses multiples). L'analyse Diagnostic comprend l'anamnèse, l'examen physique, la numération formule sanguine, la biopsie de la moelle osseuse, l'électrophorèse des protéines sériques, l'évaluation de l'urine pour la protéine du myélome et l'examen du squelette. Le diagnostic de SBP nécessite une lésion osseuse solitaire confirmée par une enquête squelettique, une infiltration plasmocytaire prouvée par biopsie, une biopsie de moelle osseuse normale (<10 % de plasmocytes) et l'absence de dysfonctionnement organique lié au myélome. Le rôle de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) de la colonne vertébrale thoracique et lombo-sacrée dans le diagnostic du plasmocytome osseux solitaire (SBP) a été évalué prospectivement par Moulopoulos et al chez 12 patients consécutifs atteints de SBP. La présence de protéine monoclonale (protéine M) dans le sérum ou l'urine a été notée chez 24 % à 72 % des patients dans diverses séries. Les valeurs de paraprotéine étaient généralement très faibles, avec seulement 11 des 37 patients avec une protéine M sérique > 1 g/dL.¹⁶¹

13-3 Plasmocytome extramédullaire :

13-3-1 Incidence :

Le plasmocytome extramédullaire (EMP) est encore moins fréquent que le plasmocytome solitaire osseux. Cette tumeur représente environ 3% de tous les néoplasmes des plasmocytes. L'âge médian des patients est de 60 ans et 75 % des patients sont des hommes.

13-3-2 Présentation clinique :

Ces tumeurs peuvent survenir à n'importe quel site, mais presque 90% d'entre eux se développent dans la zone de la tête et du cou et surtout dans la partie supérieure des voies respiratoires (nez, sinus para nasaux, nasopharynx et amygdales). Les plasmocytomes sont généralement des lésions sous-muqueuses, et les patients peuvent présenter des symptômes tels que l'écoulement nasal, l'épistaxis, une obstruction nasale, mal de gorge, enrouement ou hémoptysie. Le plasmocytome de la thyroïde peut présenter une hypertrophie indolore et peut

être associée à une thyroïdite de Hashimoto concomitante. Les sites d'atteinte rares comprennent le tractus gastro-intestinal, le foie, la rate, le pancréas et autres organes tels que le sein, les testicules ou la peau.¹⁶²

13-3-3 Diagnostic :

Les critères diagnostiques du plasmocytome extramédullaire (EMP) sont une biopsie tissulaire indiquant une histologie des plasmocytes monoclonaux, une infiltration plasmocytaire de la moelle osseuse inférieure à 5 % de toutes les cellules nucléées, l'absence de lésions osseuses ostéolytiques ou d'autres atteintes tissulaires sans preuve de myélome, d'hypercalcémie ou d'insuffisance rénale. Moins d'un quart des patients présentent des signes d'un faible niveau de protéine monoclonale dans le sérum ou l'urine par électrophorèse et/ou immunofixation. L'EMP doit être distingué du plasmocytome réactif, du granulome plasmocytaire et du lymphome (MALT, zone marginale et immunoblastique). Ceci est probablement mieux accompli par des études phénotypiques positives pour CD38 et l'expression de la chaîne légère cytoplasmique monoclonale des plasmocytes malins obtenus par biopsie ou aspiration à l'aiguille fine de la lésion solitaire. Comme pour la SPB, il ne devrait y avoir aucun signe de plasmocytose clonale de la moelle. Environ 85 % des lésions surviennent au niveau de la muqueuse de la tête et du cou, et une atteinte osseuse sous-jacente, en particulier au niveau des sinus, peut être notée. L'atteinte gastro-intestinale, bien que significativement moins fréquente, est le deuxième site le plus fréquent et les autres zones d'atteinte rapportées comprennent rarement les poumons, la vessie, la thyroïde, les testicules, les ovaires et les amygdales, entre autres. Les données sont limitées concernant le diagnostic et la stadification de ce trouble, et bien que la TDM ou l'IRM soient nécessaires pour documenter l'étendue de la lésion solitaire, aucune donnée prospective n'existe concernant le rôle de l'IRM vertébrale dans la stadification de cette entité.¹⁶³

14- LA MALADIE DES DEPOTS D'IMMUNOGLOBULINES

MONOCLONALES :

MIDD a été initialement signalé en 1957 par Kobernick et Al comme une maladie rénale non amyloïde ressemblant à glomérulosclérose diabétique chez les patients atteints de myélome non diabétique. C'est en 1976 que Randall a introduit le terme de « maladie des dépôts de chaînes légères monoclonales »¹⁶⁴, La prolifération anormale des plasmocytes et de certaines cellules B monoclonales provoquent fréquemment la sécrétion d'immunoglobulines monoclonales ou fragments d'immunoglobulines dans le sérum, provoquant une gammopathie monoclonale, qui conduit à diverses maladies, y compris des maladies rénales y compris des maladies glomérulaires et tubulo-interstitielles. La maladie glomérulaire, avec dépôt d'immunoglobulines monoclonales ou de leurs composants, comprend la maladie des dépôts d'immunoglobulines monoclonales (MIDD). Selon la composition des dépôts, 3 sous-types de MIDD se distinguent¹⁶⁵ :

- maladie de dépôt de chaînes légères (LCDD)
- maladie de dépôt de chaînes lourdes (HCDD)
- maladie de dépôts de chaînes lourdes et légères (LHCDD)

Les MIDD peuvent survenir dans le contexte d'une prolifération plasmocytaire ou lymphocytaire B symptomatique (myélome multiple, macroglobulinémie de Waldenström), mais aussi être associées à un myélome indolent ou à une gammopathie monoclonale dite de signification indéterminée (MGUS). Récemment, le terme de gammopathie monoclonale de signification rénale (MGRS) a été introduit pour souligner le lien de causalité entre l'Ig monoclonale sécrétée par un petit clone B et la survenue d'une maladie rénale.¹⁶⁶ Les principales séries de patients atteints de MIDD indiquent que la maladie est plus fréquente chez les hommes, majoritairement autour de 60 ans. Néanmoins, l'âge de découverte est très variable (à partir de 30 ans). Deux caractéristiques pathologiques principales distinguent les MIDD des amyloses immunoglobuliniques : la présence de dépôts non organisés de fragments d'Ig monoclonales, et l'accumulation habituelle de protéines de la matrice extracellulaire (MEC) au contact des dépôts. La maladie des dépôts d'immunoglobulines monoclonales (MIDD) est une maladie rare caractérisée par le dépôt de molécules d'Ig monoclonales dans les membranes basales. Contrairement à l'amylose, les dépôts dans le MIDD sont non fibrillaires et négatifs au

rouge Congo. Les MIDD se manifestent habituellement sous la forme d'une insuffisance rénale progressive associée à des symptômes glomérulaires, avec un syndrome néphrotique dans la moitié des cas. Les syndromes cliniques impliquant d'autres systèmes organiques étaient moins fréquents mais parfois graves. Plusieurs patients avaient un myélome multiple manifeste. D'autres présentaient une hypercalcémie et une plasmocytose médullaire modérée mais sans aucune lésion lytique. Le diagnostic est basé sur une étude d'immunofluorescence (IF) de la biopsie rénale, montrant des dépôts linéaires de l'immunoglobuline monoclonale impliquée principalement le long des membranes basales tubulaires (TBM), et généralement dans le mésangium, le long des membranes basales glomérulaires (GBM), sans aspect fibrillaire, cristallin ou micro tubulaire en microscopie électronique, un seul isotype de chaîne légère et/ou une seule sous classe de chaîne lourde en immunofluorescence, et un dépôt pulvérulent en microscopie électronique. Les formes fibrillaires (amyloïdes) et non fibrillaires du dépôt d'immunoglobulines monoclonales surviennent soit dans le myélome multiple manifeste, soit au cours de dyscrasies plasmocytaires moins agressives sur le plan néoplasique. Les cellules de moelle osseuse de patients de l'un ou l'autre type produisent des fragments d'immunoglobulines qui sont liés à ceux déposés dans les tissus affectés.¹⁶⁷

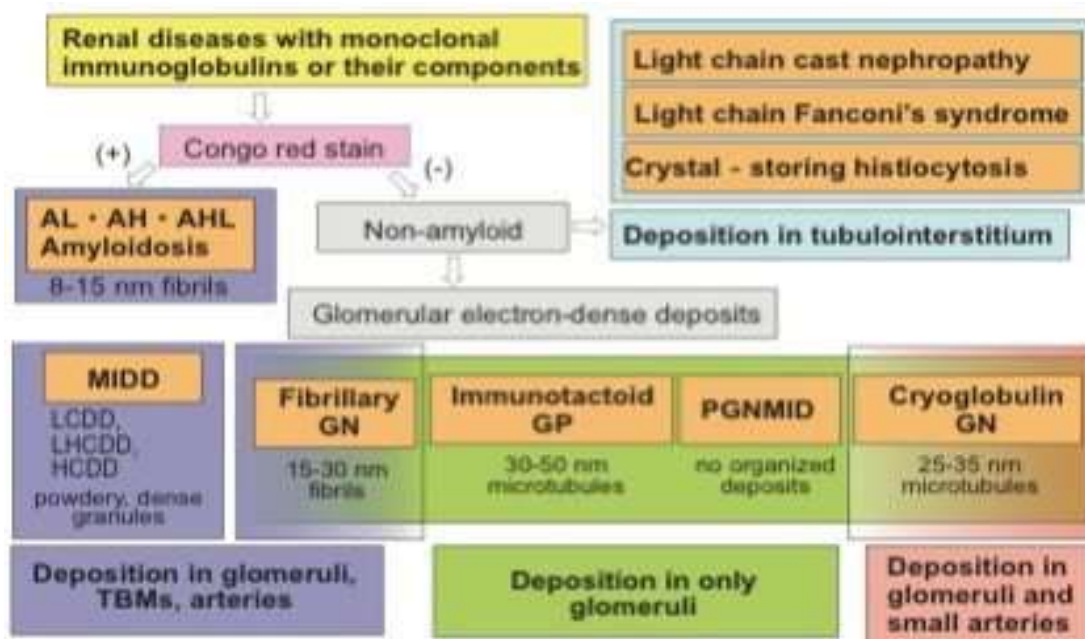


Figure 71: Maladies rénales avec dépôt d'immunoglobulines monoclonales ou de leurs composants.

Les MIDD de type Randall se définissent histologiquement par des dépôts linéaires non organisés d'Ig monoclonales le long des membranes basales, rouge Congo négatifs. Bien que la présentation clinique soit fréquemment un syndrome glomérulaire, l'atteinte histologique la plus caractéristique intéresse le compartiment tubulaire. En microscopie optique, l'aspect le plus commun est un épaissement diffus des membranes basales tubulaires, notamment distales, qui prennent un aspect rubané, chromophile, PAS positif. Parfois sont associés des dépôts interstitiels extracellulaires.¹⁶⁸

15– LYMPHOME FOLLICULAIRE :

Le lymphome folliculaire (LF) est généralement un trouble lymphoprolifératif des cellules B indolentes des cellules B du centre folliculaire transformé. LF est la deuxième tumeur mature à cellules B la plus courante, après le lymphome diffus à grandes cellules B (DLBCL). Le lymphome folliculaire (LF) est un néoplasme B mature indolent caractérisé classiquement par le t (14 ;18) (q32 ; q21) avec une surexpression constitutive de la protéine anti-apoptotique, BCL2. La plupart des cas se présentent chez des adultes plus âgés avec une lymphadénopathie lentement progressive et suivent une évolution clinique indolente. La morphologie typique montre une prolifération folliculaire expansible avec expression tumorale des marqueurs du centre germinatif, et l'atteinte médullaire au moment du diagnostic est fréquente Sa survie médiane a été évaluée pendant des décennies à ~ 9-10 ans, mais avec l'avènement de nouvelles modalités de traitement et de meilleurs soins de soutien, elle est passée à ~ 14 ans.¹⁶⁹

15-1 Incidence :

Le lymphome folliculaire est le deuxième lymphome le plus fréquemment diagnostiqué aux États-Unis et en Europe occidentale, représentant environ 35 % de tous les lymphomes non hodgkiniens (LNH) et 70 % des lymphomes indolents. L'âge médian au moment du diagnostic est de 65 ans. L'incidence est légèrement augmentée parmi les proches des personnes atteintes de LF. L'incidence du LF montre une variation géographique, a été stable aux États-Unis et en France depuis 2000, mais a augmenté dans d'autres pays occidentaux et asiatiques. Le LF a un pronostic favorable avec un taux de survie de 88,4% à 5 ans.¹⁷⁰

15-2 Pathogenèse :

La translocation chromosomique t (14 ; 18) est à la fois une caractéristique génétique du lymphome folliculaire et un événement précoce critique dans son développement. La

translocation entraîne une dérégulation du proto-oncogène BCL2. L'acquisition de cette translocation se produit dans la moelle osseuse lors d'un réarrangement de la chaîne lourde, bien avant que les cellules B en cours de maturation n'entrent dans les GC dans le ganglion lymphatique. Compte tenu de leur expression anormale de BCL2, les cellules B avec t (14 ;18) peuvent échapper au processus apoptotique normal permettant des durées de vie prolongées (en empêchant la mort apoptotique) et l'acquisition d'événements oncogènes supplémentaires. Il existe des translocations alternatives mineures qui juxtaposent les promoteurs de la chaîne légère d'immunoglobine à BCL2 [t (2 ; 18) et t (18 ; 22)], entraînant une expression anormale similaire de BCL2 sur les cellules B naïves. Il est important de noter que t (14 ; 18) ne suffit pas à lui seul pour provoquer un lymphome, car 50 à 70 % des individus en bonne santé présentent des niveaux détectables de cette translocation dans leur sang. De plus, t (14 ; 18) est la seule anomalie cytogénétique dans <10 % des cas de LF, soutenant la nécessité d'anomalies chromosomiques supplémentaires et/ou d'événements mutationnels.¹⁷¹

15-3 Présentation clinique :

Les patients présentent généralement une maladie ganglionnaire étendue, une lymphadénopathie diffuse, une atteinte de la moelle osseuse et une splénomégalie. L'atteinte extraganglionnaire est moins fréquente. Les cytopénies sont relativement fréquentes, mais les symptômes constitutionnels de fièvre, de sueurs nocturnes et de perte de poids sont rares en l'absence de transformation en lymphome diffus à grandes cellules B. Moins de 20 % des patients présentent des symptômes B. De même, moins de 20 % des patients présentent une augmentation du lactate déshydrogénase sérique (LDH). Une présentation unique de la maladie se trouve dans l'intestin où le LF est généralement à un stade précoce et a un pronostic très favorable. Les profils de mutation du LF duodénal et du LF nodal suggèrent que les microenvironnements immunitaires de ces entités sont distincts. Le LF pédiatrique est une autre entité distincte. Le LF pédiatrique se présente avec une maladie localisée, une histologie de grade 3 et une absence de réarrangements de BCL1-2. Le FL pédiatrique est hautement curable.¹⁷²

15-4 Diagnostic :

15-4-1 Histologie :

Le diagnostic est basé sur l'histologie d'une biopsie d'un ganglion lymphatique ou d'un autre tissu affecté. La biopsie incisionnelle est préférée aux biopsies à l'aiguille afin de donner un tissu adéquat pour attribuer le grade et évaluer la transformation. Histologiquement, il est composé principalement de centrocytes avec une composante variable de centroblastes, dont la fréquence donne le grade (1, 2 ou 3, selon le pourcentage de centroblastes). Le lymphome folliculaire récapitule les centres germinatifs normaux (GC) des follicules lymphoïdes secondaires. Les cellules néoplasiques sont constituées d'un mélange de centrocytes (cellules de petite à moyenne taille) et de centroblastes (grandes cellules). L'agressivité clinique de la tumeur augmente avec l'augmentation du nombre de centroblastes. La classification de l'OMS utilise un système de classement de 1 à 3 basé sur un nombre accru de centroblastes comptés par champ à haute puissance. Le FL de grade I a 0 à 5 centroblastes/champ à haute puissance (petit clivage folliculaire), le FL de grade II a 6 à 15 centroblastes/hpf (folliculaire mixte) et le FL de grade III a plus de 15 centroblastes/hpf (grand cellule). Le grade III a été subdivisé en grade IIIa, dans lequel les centrocytes sont présents, et en grade IIIb, dans lequel se trouvent des feuillettes de centroblastes. Le LF de grade IIIb ressemble davantage, sur le plan clinique et biologique, à un lymphome diffus à grandes cellules B et est traité comme tel.¹⁷³

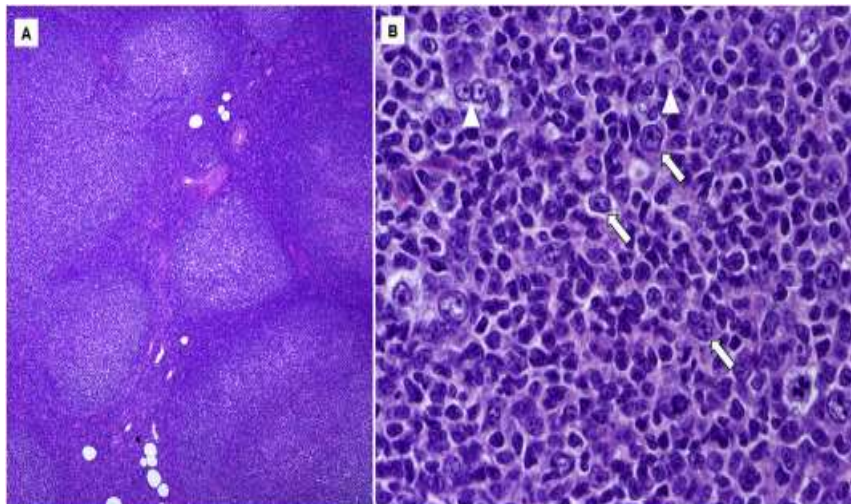


Figure 72: Caractéristiques morphologiques classiques du lymphome folliculaire.

(A) L'architecture des ganglions lymphatiques est remplacée par des follicules irréguliers « dos à dos » avec des manteaux atténués. (B) Images à haute puissance d'un follicule malin principalement composé de petites cellules néoplasiques de forme irrégulière (centrocytes), de grands centroblastes dispersés (flèches) et de rares cellules dendritiques folliculaires (pointes de flèches).

15-4-2 Critères cytogénétiques et moléculaires :

La translocation t (14 ; 18) (q32 ; q21), anomalie primaire des LF, est détectée dans 80 à 90 % des lymphomes folliculaires. Elle aboutit à un réarrangement IGH/BCL2, qui place l'oncogène anti-apoptotique BCL2 sous le contrôle de l'enhancer du gène des chaînes lourdes d'immunoglobulines (IGH) induisant la dérégulation de l'expression de BCL2. Une proportion non négligeable (10 à 20 %) d'authentiques cas de LF ne comportent pas de t (14 ; 18) IGH/BCL2 ni en cytogénétique conventionnelle, ni en FISH. Dans ces formes, on observe un réarrangement de BCL6 dans 22 % des cas, soit plus fréquemment que dans les LF avec t (14 ; 18). Face à un diagnostic de LF sans t (14 ; 18) en cytogénétique conventionnelle, la FISH IGH/BCL2 (ou BCL2) est recommandée en première intention, la recherche d'un réarrangement de BCL6 étant secondairement recommandée en l'absence de réarrangement BCL2. La recherche d'un remaniement de MYC est optionnelle dans les rares cas de LF agressifs (présence de cellules circulantes, présentation clinique agressive). Chez l'enfant ou l'adulte jeune, en l'absence de réarrangement BCL2 ou BCL6, la recherche d'un réarrangement de IRF4 est optionnelle. Panneau IHC : Ki-67g ; IRF4/MUM1 pour FL grade 3, cycline D1, panel de séquençage de nouvelle génération incluant la mutation TNFRSF14 et STAT6.¹⁷⁴

15-4-3 Immunophénotypage par cytométrie en flux :

FL est de la lignée des lymphocytes B et exprime donc des marqueurs de lymphocytes B tels que CD19 et CD20. Compte tenu de son origine de centre germinatif, les cellules de FL exprimeront également CD10 et BCL6. Un marqueur utile dans le diagnostic de FL est BCL2, qui est négatif en temps normal dans les centres germinatifs mais positifs dans presque tous les cas de FL grade 1-2 et environ 50 % de FL de grade 3. La coloration CD5 est négative. La détection par cytométrie en flux de l'immunoglobuline de surface montre une expression monotypique de la chaîne légère. La coloration CD21 et/ou CD23 mettra en évidence les réseaux de cellules dendritiques folliculaires, facilitant l'évaluation du modèle de l'infiltrat.

L'immunophénotype typique du LF tel qu'identifié par cytométrie en flux est CD19+ (faible), CD20+ (brillant), CD10+ (uniforme), CD5-, CD23-, CD200-, CD11c-, avec expression de surface de la chaîne κ d'immunoglobuline restreinte ou de l'immunoglobuline λ -chaîne.¹⁷⁵

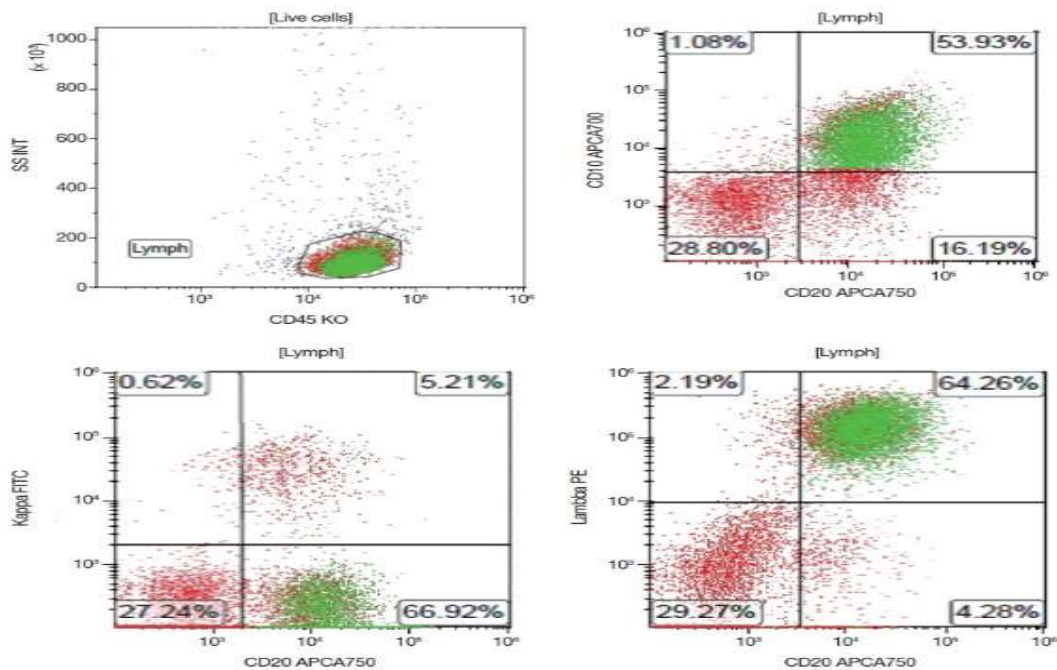


Figure 73 : Un cas représentatif de l'immunophénotype du lymphome folliculaire.

L'immunophénotypage par cytométrie en flux d'un spécimen d'aspiration à l'aiguille fine d'un ganglion lymphatique d'un patient atteint de lymphome folliculaire confirme que les cellules du lymphome, contrôlées par l'expression de CD45, coexpriment CD20 et CD10, avec une restriction de la chaîne légère de surface pour lambda.

15-5 Lymphome folliculaire duodéal :

L'atteinte duodénale isolée par FL représente l'une des premières formes de maladie cliniquement évidente. La plupart des cas sont découverts accidentellement lors d'endoscopies pour des symptômes non liés. La muqueuse duodénale impliquée montre souvent un aspect granulaire ou nodulaire multifocal, avec les taux d'occurrence les plus élevés dans la deuxième partie du duodénum. Histologiquement, la lamina propria contient des follicules néoplasiques définis avec une certaine diffusion extrafolliculaire des cellules infiltrantes dans la muqueuse environnante¹⁷⁶. Le LF duodéal primaire est généralement limité à la muqueuse ; si l'extension de la musculature est identifiée, l'atteinte duodénale est probablement secondaire au LF

systémique. Le LF de type duodénal est extrêmement faible (> 95 % des cas sont de grade 1 à 2) et suit une évolution indolente, avec peu de cas évoluant vers une maladie systémique ou se transformant à un grand lymphome cellulaire. Les cellules néoplasiques partagent l'immunophénotype du LF systémique classique, montrant une positivité pour CD10, BCL2 et/ou BCL6. Cependant, les réseaux de cellules dendritiques folliculaires sont soit absents, soit généralement (mais pas invariablement) limités à la périphérie des follicules.¹⁷⁷ Environ 90 % des cas ont t(14;18)(q32;q21), mais ne montrent pas beaucoup et les changements moléculaires qui sont acquis dans le LF systémique, bien qu'un sous-ensemble de LF de type duodénal présentent des altérations du locus TNFRSF14. Ce manque d'événements oncogènes supplémentaires contribue probablement à l'histoire naturelle indolente du LF de type duodénal. Fait intéressant, le profilage de l'expression génique suggère une relation plus étroite avec le lymphome de la zone marginale du tissu lymphoïde extraganglionnaire (MALT) qu'avec le LF systémique, ce qui est en corrélation avec l'absence de maillage de cellules folliculaires dendritiques et la restriction de la chaîne lourde IgA trouvée dans le LF de type duodénal.¹⁷⁸

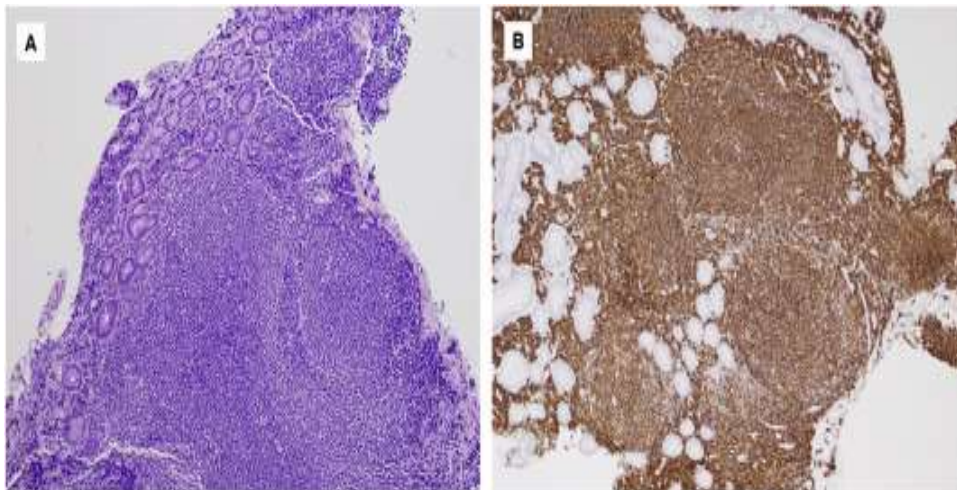


Figure 74: Lymphome folliculaire de type duodénal. (A) Sections colorées H&E de biopsie duodénale montrant de grands follicules néoplasiques avec (B) coloration uniforme par CD20.

15-6 Lymphome folliculaire testiculaire :

Le lymphome testiculaire primitif (PTL) est une entité rare avec une incidence annuelle de 0,26 cas pour 100 000 années-personnes et les tumeurs testiculaires malignes les plus courantes chez les hommes de plus de 60 ans, qui représentent environ 1 à 9 % dans les tumeurs testiculaires

et 1 à 2% de tous les lymphomes non hodgkiniens. Le diagnostic de lymphome testiculaire primitif est généralement confirmé par une orchidectomie ou une biopsie testiculaire. Le lymphome diffus à grandes cellules B (DLBCL) est le sous-type histologique le plus courant de lymphome testiculaire primitif, comprenant 80 à 90 % de tous les lymphomes primitifs des testicules. Le lymphome folliculaire primitif du testicule adulte n'a pas été bien caractérisé. Cependant, un petit nombre de lymphomes folliculaires testiculaires primitifs ont récemment été décrits chez l'enfant. Les biopsies montrent des follicules néoplasiques composés principalement de centroblastes ; La maladie de grade 3A est la plus courante. Un sous-ensemble de cas a un DLBCL concomitant. Les follicules néoplasiques peuvent effacer les tubules séminifères normaux ou montrer un motif interstitiel infiltrant. Les cellules tumorales sont positives pour CD20, CD10 et BCL6, mais sont négatives pour BCL2 et manquent uniformément de la caractéristique t (14 ; 18) du LF systémique. De rares cas montrent des réarrangements BCL6. Bien que le grade histologique suggère un comportement agressif, les patients pédiatriques atteints de LF testiculaire primaire se portent très bien, certains patients subissant une intervention chirurgicale seule. Chez ceux dont l'excision est incomplète, la chimiothérapie de faible intensité s'est avérée être un traitement efficace avec une excellente survie à long terme.¹⁷⁹

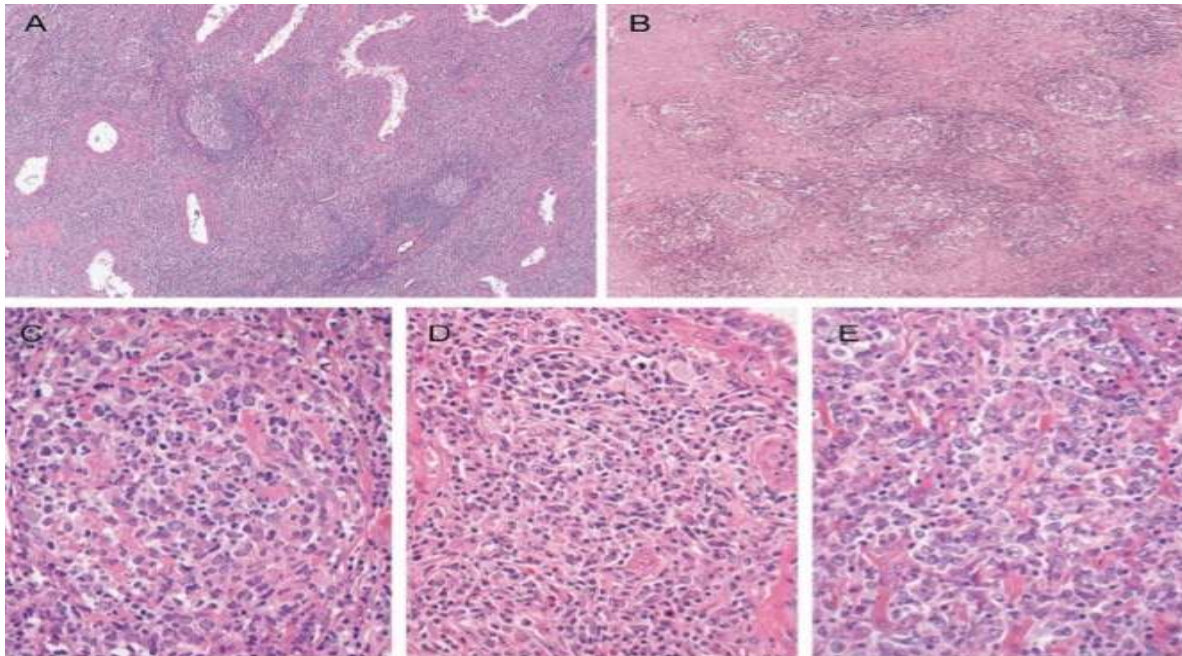


Figure 75: Morphologie du lymphome folliculaire testiculaire primitif.

Dans certaines régions, les follicules néoplasiques étaient dispersés parmi un infiltrat interfolliculaire et inter tubulaire proéminent [A, hématoxyline et éosine (H&E) 40]. Dans d'autres régions, les follicules néoplasiques ont été trouvés parmi les fibroses denses (B, H&E 40). Dans 3 cas, les follicules néoplasiques contenaient de nombreux centroblastes, grade OMS 3a (C, H&E 400). Dans la plupart des régions, l'infiltrat interfolliculaire comprenait de petites cellules centrocytaire et de petits lymphocytes réactifs mélangés (D, H&E 400), mais dans 2 cas (cas 2 et 4) certaines zones contenaient suffisamment de grandes cellules ectoblastiques pour être considérées comme focales DLBCL (E, H&E 400).

16- LYMPHOME FOLLICULAIRE PEDIATRIQUE :

Le lymphome folliculaire est couramment observé chez l'adulte comme un lymphome de bas grade et est toujours associé à une lymphadénopathie généralisée. Cependant, bien que rare, lorsqu'elle survient chez les enfants et les adolescents, elle est souvent associée à des taux de prolifération élevés et est susceptible de se présenter comme une maladie localisée. Le lymphome folliculaire de type pédiatrique (PTFL) présente des caractéristiques cliniques et pathologiques distinctives. Il s'agit d'une variante nouvellement reconnue du lymphome folliculaire dans la classification de l'Organisation mondiale de la santé (OMS). Actuellement, la pathogenèse de cette entité est largement inconnue et les différences entre les PTFL nodaux et les PTFL dans d'autres sites anatomiques n'ont pas été explorées. Bien que des différences de grade cytologique aient été notées avec le LF habituel (UFL) comme on le voit chez l'adulte, le PTFL est souvent un défi Diagnostic et des critères histologiques plus précis n'ont pas été définis.¹⁸⁰ Il a été rapporté que la majorité des patients atteints de PTFL présentaient une maladie localisée de stade I et présentaient des évolutions cliniques généralement indolentes, caractérisées par une cytologie de haut grade, l'absence de la translocation chromosomique caractéristique t (14 ; 18) (q32 ; q21) et une faible Expression de la protéine du lymphome à cellules B 2 (BCL-2). Des cassures chromosomiques du gène de la chaîne lourde des immunoglobulines (IGH) et du locus BCL6 ont été détectées PTFL manque également de réarrangements BCL6, IRF4 et MYC. L'absence de translocations BCL2 soulève la question des mécanismes moléculaires impliqués dans la pathogenèse du LF pédiatrique. Nous avons pu démontrer des aberrations récurrentes de l'IGH dans le LF pédiatrique.¹⁸¹ Bien que le partenaire

de translocation de l'IGH reste à déterminer, notre découverte pourrait ouvrir la voie à une compréhension de la base génétique du LF pédiatrique. De plus, nos découvertes génétiques pourraient être utiles dans un contexte de diagnostic. Compte tenu du fait que certains lymphomes sont immunohistochimiquement négatifs pour le BCL2, le diagnostic du LF pédiatrique, en particulier la distinction de l'hyperplasie atypique, peut être assez difficile. Les analyses des réarrangements clonaux de l'IGH ou de l'expression des chaînes légères monoclonales sont des outils utiles pour le différentiel diagnostique de LF de l'hyperplasie atypique. Le PTFL, est généralement observé chez les patients âgés de 3 à 18 ans, avec un rapport homme/femme d'environ 4 :1. Il survient le plus souvent dans les ganglions lymphatiques cervicaux et les amygdales ; cependant, une apparition extraganglionnaire de PTFL a été signalée, comme dans les testicules, le tractus gastro-intestinal, la glande parotide et la dure-mère. Contrairement au lymphome folliculaire de l'adulte, le PTFL a toujours un excellent pronostic, avec une survie sans événement de 90 %. Le LF pédiatrique est généralement composés de grands follicules expansés, qui présentaient des caractéristiques architecturales d'atypiques telles que des manteaux folliculaires réduits, une compartimentation manquante des follicules dans une zone sombre et une zone claire ou un nombre discordant de grandes cellules et de macrophages corps tingibles TBMs.¹⁸²

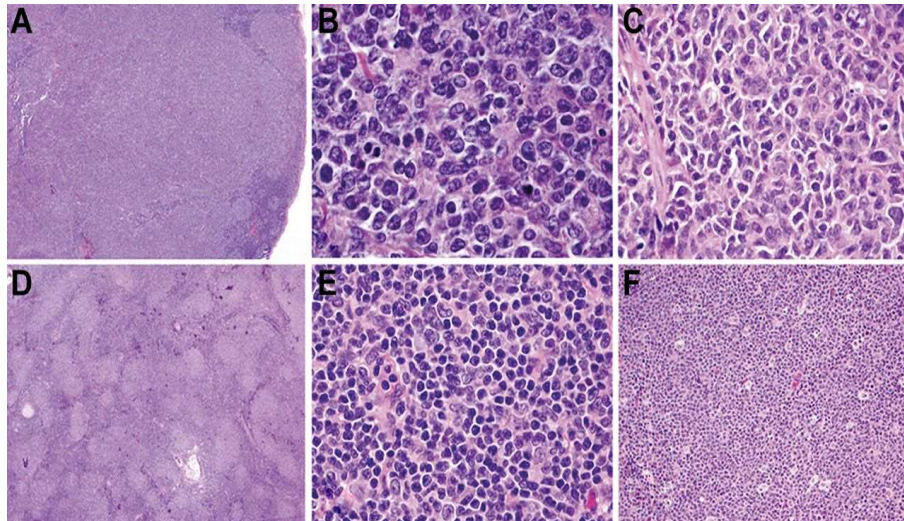


Figure 76: Caractéristiques histologiques du LF chez les enfants et les jeunes adultes.

Tous les cas ont montré un effacement architectural au moins partiel par une prolifération folliculaire. Dans 1 cas représentatif, il existe des follicules volumineux, expansibles et

coalescents (A) composés de centrocytes de petite à moyenne taille et de nombreux centroblastes de moyenne à grande taille (B), compatibles avec le grade histologique 3A (B). Dans un deuxième cas (C), les centrocytes de taille moyenne prédominent et les centroblastes sont rares. L'infiltrat néoplasique d'un troisième cas est composé de follicules relativement petits (D), composés majoritairement de petits centrocytes (E). L'apparition de "ciel étoilé", comme illustré dans un quatrième cas (F), était fréquente.

17- LYMPHOME CUTANE CENTRO-FOLLICULAIRE PRIMITIF :

Le lymphome cutané primitif à centro-folliculaire (PCFCL) est un lymphome indolent qui se présente avec des papules, des plaques et/ou des nodules érythémateux ou violacés solitaires ou, moins fréquemment, groupés avec une distribution principalement loco-régionale, et il montre une préférence pour le tronc et la région tête-cou. Des ulcérations sont rarement observées. Le PCFCL affecte le plus souvent les patients d'âge moyen avec une légère prédominance masculine et représente environ 55 à 60 % de tous les PCBCL. Le pronostic est excellent avec une survie spécifique à 5 ans de 95%. Sans traitement, les lésions peuvent être stables ou s'agrandir lentement souvent après quelques années. Dans de rares cas, les lésions peuvent également régresser spontanément. Histologiquement, le PCFCL se caractérise par un infiltrat dermique organisé en trois schémas différents selon le type de lésion cutanée et son apparition : folliculaire, folliculaire et diffuse, et diffuse. Ces modèles de croissance ne diffèrent pas en termes de comportement ou de pronostic. Dans les papules et les plaques d'apparition récente, il existe un motif folliculaire ou folliculaire et diffus. Ce schéma peut être un piège Diagnostic courant du pseudo lymphome. Par la suite, l'infiltrat s'étend et les structures folliculaires ne sont plus visibles. Les cellules lymphoïdes sont constituées d'un compte variable de petites cellules de type centrocytes et de grandes cellules de type centroblastes. Les phénotypes des cellules cancéreuses sont CD20+, CD79a+, CD5-, CD10+/-, bcl6+ et MUM-1/IRF-4 négatifs. Des gènes d'immunoglobuline réarrangés clonalement sont présents dans la plupart des cas. Le diagnostic différentiel inclut l'acné, les kystes, les morsures d'arthropodes, le carcinome basocellulaire, le carcinome à cellules de Merkel, d'autres lymphomes cutanés non à cellules B et l'hyperplasie lymphoïde cutanée. Un examen de la moelle osseuse doit être envisagé.¹⁸³

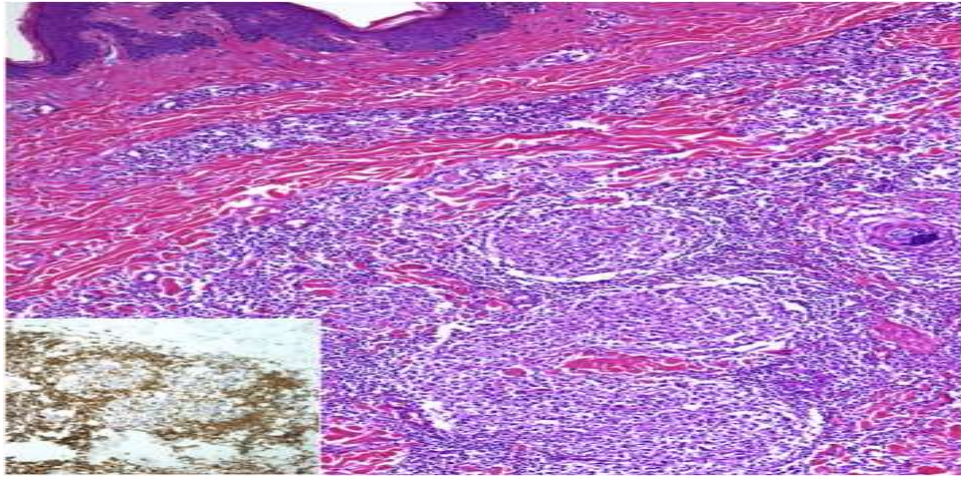


Figure 77 : Lymphome primitif à cellules centrales du follicule cutané. Prolifération nodulaire de follicules néoplasiques dans le derme (H&E), mais pas d'expression de BCL2.

Tableau 13: Présentation des différentes variantes de Lymphome folliculaire

Variantes	Critères cliniques	Morphologie	Immunophénotype	Génétique
Lymphome Folliculaire Duodénale	Souvent identifié fortuitement pendant l'endoscopie ; indolent	Grade variable ; motif folliculaire	CD10/BCL6+, BCL2+	t (14 ; 18) +
Lymphome Folliculaire Testiculaire	Indolent	Haut grade	CD10/BCL6+, BCL2-	t (14 ; 18) -
Lymphome cutané Centro-folliculaire primitif	Lésions sur la tête et le tronc ; indolent	Spectre cytologique variable ; diffuse à folliculaire	CD10- si diffuse, + si folliculaire, BCL2 dim-	t (14 ; 18) -
Lymphome Folliculaire Pédiatrique	Lymphadénopathie tête/cou ; Indolent	Haut grade ; Folliculaire ou serpigneux	CD10/BCL6+, BCL2-	t (14 ; 18) -

18- APPORT DE LA CMF DANS LE SUIVI DES SLPC B :

18-1- Suivi de la LLC :

La maladie résiduelle minimale, définie comme la présence d'un petit nombre de résidus de cellules leucémiques dans le sang ou la moelle osseuse après thérapie, n'a pas d'application clinique en routine pour l'heure. Elle reste cependant un critère se substituant à la survie sans progression pour les études d'immuno chimiothérapie, dans lesquelles elle peut servir de marqueur pour proposer un traitement d'entretien si elle demeure positive, ou à l'inverse pour stopper une immunochimiothérapie si la maladie résiduelle minimale est indétectable de manière précoce. L'importance de l'obtention d'une maladie résiduelle minimale indétectable est bien illustrée par les données de l'essai randomisé CLL8 dans lequel la survie sans progression était dictée par la maladie résiduelle minimale indépendamment du type de traitement reçu en induction.¹⁸⁴ Deux méthodes sont actuellement standardisées et considérées équivalentes pour la détection de la maladie résiduelle minimale, avec un seuil de détection d'une cellule leucémique sur 10 000 leucocytes (sensibilité de 10⁻⁴).¹⁸⁵ Cependant, seule la cytométrie en flux (CMF) est pratiquée en routine, du fait du coût élevé et de la mobilisation importante du laboratoire nécessaire à la technique de PCR (polymerase chain reaction). Sa mesure par cytométrie en flux ou biologie moléculaire a notamment une place grandissante dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC) car ces cellules tumorales présentent des caractéristiques phénotypiques particulières et communes à l'ensemble des patients et elles sont systématiquement présentes dans le sang et la moelle osseuse. Une meilleure sensibilité de la CMF est constatée dans les prélèvements médullaires, ce qui permettrait une détection plus précoce d'une MRD positive. Initialement basées sur la coexpression CD5/CD19+.

Tableau 14 :Différentes méthodes de mesure de la maladie résiduelle minime¹⁸⁶

Méthode	Sensibilité	Quantitatif (seuil)	Standardisé	Matériel	Facteurs influençant les résultats
CMF CD5/19 κ/λ	10 ⁻²	Non	Non	Leucocytes vivants (< 48 h)	Cellules B normales (augmentées si traitement récent)
CMF quantitative 4 couleurs	10 ⁻⁴	Oui : 10 ⁻⁴	Oui	≥ 10 ⁷ leucocytes vivants (< 48 h)	Nombre de leucocytes disponibles (prélèvements paucicellulaires)
CMF quantitative 6 couleurs	10 ⁻⁵	Oui : 10 ⁻⁵	Oui	≥ 10 ⁷ leucocytes vivants (< 48 h)	Nombre de leucocytes disponibles (prélèvements paucicellulaires)
PCR à amorces consensus <i>IGHV</i>	≈ 10 ⁻³	Non	Oui	≈ 10 ⁶ leucocytes totaux	Cellules B normales, type de clone
ASO-PCR temps réel	10 ⁻⁵	Oui : 10 ⁻⁴	Oui	≈ 10 ⁶ leucocytes totaux	Clone typé préalablement (région CDR3)
Nested ASO-PCR temps réel	10 ⁻⁶	Non	Non	≈ 10 ⁶ leucocytes totaux	Clone typé préalablement (région CDR3)
PCR à amorces consensus <i>IGHV</i> + séquençage à haut débit	10 ⁻⁶	Oui : 10 ⁻⁵	Non	1 µg d'ADN initial, 6-60 µg pour le suivi	Défaut d'amplification possible si leucémie lymphoïde chronique mutée <i>IGHV</i>

ASO-PCR : allele-specific oligonucleotide-polymerase chain reaction ; CMF : cytométrie en flux ; PCR : polymerase chain reaction

L'European Research Initiative on CLL (ERIC) et l'European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) a conclu que SmIgκ, SmIgλ, CD5, CD19, CD20 et CD23 sont le minimum requis marqueurs pour diagnostiquer la LLC par cytométrie en flux. Les caractéristiques typiques de la LLC sont la restriction des chaînes légères avec coexpression de CD5, CD19, CD20(dim), CD23, CD43, et CD200, en l'absence de CD10 et CD79b. Ces marqueurs sont incorporés dans deux EuroFlow™ 8 couleurs panels standardisés : le tube de dépistage lymphoïde(LST) et premier tube de trouble lymphoprolifératif chronique à cellules B (B-CLPD).¹⁸⁷ Les caractéristiques immunophénotypiques typiques de la LLC sont exploitées pour mesurer la maladie résiduelle minimale (MRD). Le MRD est considéré comme positive si elle est supérieure ou égale à une cellule leucémique pour 10 000 Leucocytes normaux (0,01 %)¹⁸⁸. La cytométrie en flux est la méthode la plus largement utilisée pour mesurer le MRD, avec l'étalon-or étant le panneau 8 couleurs d'ERIC. Par exemple, la combinaison CD43/CD79b/CD20/CD81/CD19/CD5 est actuellement considérée comme suffisante et non redondante pour détecter la maladie qui persiste au seuil 10⁻⁵ dans la LLC. Bien que l'utilisation d'une combinaison de 6 à 8 marqueurs soit maintenant une pratique courante dans de nombreux centres, un seuil de 10⁻⁴ reste le seuil utilisé pour définir la maladie résiduelle minimale indétectable. Des études de maladies résiduelles minimales sous- seuil peuvent être réalisées à

l'aide de techniques sensibles telles que la cytométrie en flux avec séquençage de 6 à 8 couleurs à haut débit, mais sans clinique claire

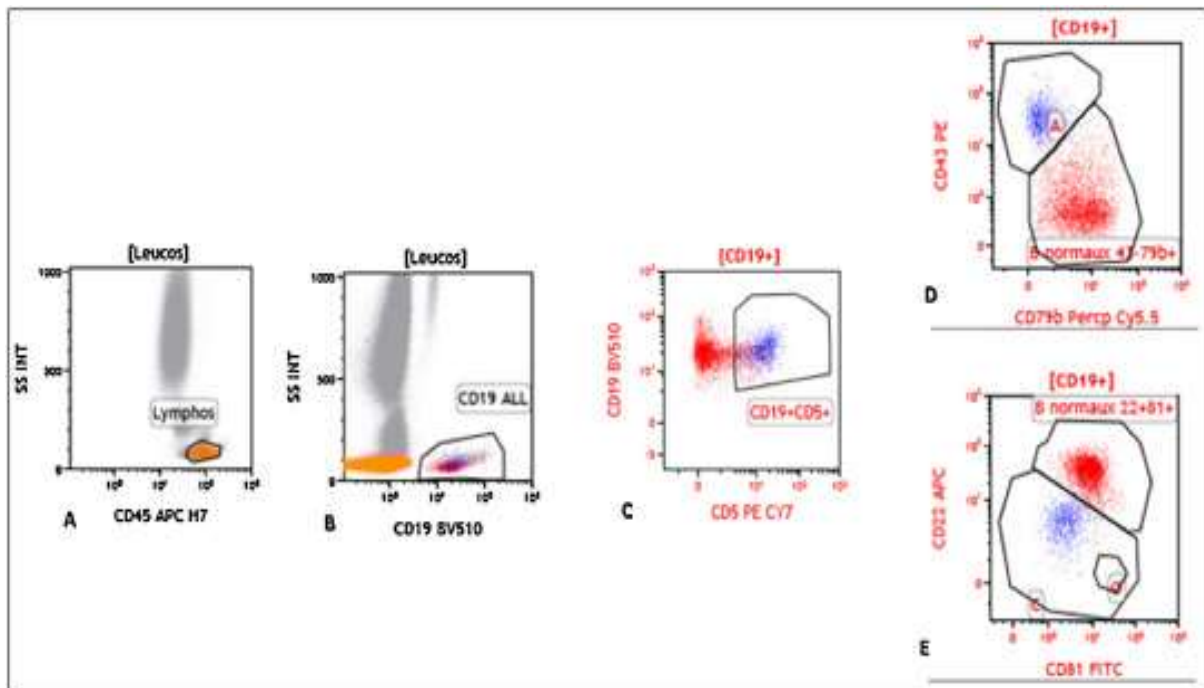


Figure 78: Exemple de MRD positive à 0,2 %

A Repérage des leucocytes (CD45+). B Repérage des lymphocytes B (CD19+). C Isolement de la population CD19+/CD5+, représentant ici 31,3 % des lymphocytes B (bleu). D et E Les panels CD43/CD79b/CD19/CD5 et CD22/CD81/CD19/CD5 permettent l'isolement des cellules de LLC, comptant ici pour 0,2 % des leucocytes totaux (mesure identique avec les deux panels).

- Un nouveau CMF à 10 couleurs :

Bien qu'il y ait un chevauchement partiel entre les marqueurs dans les panels de diagnostic et de MRD, les combinaisons anticorps-fluorochrome sont différentes. Cela entraîne des coûts d'entretien et de stockage d'anticorps supplémentaires. Avec l'intérêt et la demande pour les tests MRD qui devraient augmenter, il vaut la peine d'explorer des alternatives plus faciles et moins chères. Avec l'avènement des cytomètres à 10 couleurs, apparaît l'hypothèse qu'un panel d'anticorps à tube unique pourrait être conçu pour permettre à la fois le diagnostic de LLC et dépistage du MRD. Une étude a modifié le panel EuroFlow™ LST pour lui inclure également

CD23 et CD200 dans un seul tube. Ces deux antigènes permettent de distinguer la LLC (CD23+ CD200+) de la cellule du lymphome de manteau (MCL) (CD23-, CD200-). Ils ont pu valider dans cette étude ce panneau modifié et enregistrer le nombre de cas CLL dans leur établissement qui pourraient être diagnostiqués sur le premier tube sans test supplémentaire. Ils ont ensuite comparé les performances de deux versions de ce panel au panneau ERIC pour la mesure MRD.¹⁸⁹

Tableau 15: Comparaison des performances des panels étudiés pour la mesure de maladies résiduelle minimale LLC (volume par test entre parenthèses)

Fluorochrome	ERIC 8-color MRD panel		Lyophilized 10-color mLST1		Liquid 10-color mLST2	
	Marker	Clone	Marker	Clone	Marker	Clone
V450	CD5 (5 µL)	L17F12	CD20/CD4	L27/SK3	CD20 (5 µL)	L27
V500c	CD3 (5 µL)	SK7	CD45	2D1	CD45 (5 µL)	2D1
BV605	-	-	CD3	SK7	CD3 (5 µL)	SK7
FITC	CD81 (20 µL)	J5-81	CD8/Lambda	SK1/1-155-1	Lambda (20 µL)	1-155-2
PE	CD79b (20 µL)	SN8	CD56/Kappa	MY31/TB28-2	Kappa (20 µL)	TB28-2
PerCPcy5.5	CD22 (5 µL)	S-HCL-1	CD5	L17F12	CD5 (15 µL)	L17F12
PE-Cy7	CD19 (5 µL)	SJ25C1	CD19/TCRgd	SJ25C1/11F2	CD19 (5 µL)	SJ25C1
APC	CD43 (5 µL)	1G10	CD23	EBVCS5	CD23 (5 µL)	EBVCS5
APC-R700	-	-	CD200	OX104	CD200 (5 µL)	OX104
APC-H7	CD20 (5 µL)	L27	CD38	HB7	CD43 (5 µL)	1G10

- Un nouveau CMF à 14 couleurs :

Le nombre croissant d'antigènes qui améliorent l'évaluation de la LLC a réduit les possibilités de l'évaluation harmonisée de la LLC au sein de petits panels de cytométrie en flux. L'Initiative européenne de recherche sur la LLC (ERIC) et la société européenne pour les chercheurs de l'initiative d'harmonisation de l'analyse cellulaire clinique (ESCCA) a pu dresser une liste des 14 antigènes requis et recommandés. Il est noté que tous les antigènes n'ont pas été évalués et validés dans des études et peu de laboratoires semblaient les utiliser tous de manière routinière. Une étude a évalué un test de cytométrie en flux à 14 couleurs pour la LLC et ainsi que d'autres tumeurs à cellules B CD5 positives, bien que l'instrumentation 13+ couleurs n'est pas commune dans les laboratoires cliniques. Ce test SLPC CD5+ à 14 couleurs fournit une plateforme de standardisation robuste pour la MRD et la caractérisation des maladies à l'aide d'analyses manuelles et automatisées. Alors que l'approche en 14 couleurs permet l'inclusion de tous les antigènes recommandés et requis, ainsi que du CD40, il reste possible que le panneau soit réduit pour une utilisation dans les instruments de 8 à 12 couleurs qui sont actuellement courants. Le

test LPD CD5+ 14 couleurs fournissent une plate-forme de standardisation robuste pour la MRD et la caractérisation des maladies à l'aide d'analyses manuelles et automatisées

Tableau 16: Panel étudié à 14 couleurs pour la mesure de la MRD LLC

14-Color CLL MRD panel	Clone/vendor	8-Color B cell legacy panel	Clone/Vendor2	6-Color CLL add-on panel	Clone/Vendor3
CD79b BB515	BD/3A2-2E7	sKappa FITC	Dako/polyclonal	FMC7 FITC	BD/FMC7
CD5 PE	BD/L17F12	sLambda PE	Dako/polyclonal	CD23 PC7	Coulter/9P25
ROR1 PE/DAZZLE 594	Biolegend/2A2	CD10 PC5	Coulter/ALB1	CD200 APC	eBioscience Dx/OX104
CD23 BB700	BD/M-L233	CD20 PC7	Coulter/B9E9	CD45 APC-H7	BD/2D1
CD19 PC7	Coulter/J3-119	CD38 APC	BD/HB7	CD19 BV421	BD/HIB19
CD81 APC	Coulter/J564	CD22 APC-A700	Coulter/SJ10.1H11	CD5 BV510	Biolegend/L17F12
CD20 APC/FIRE 750	Biolegend/2H7	CD45 APC-H7	BD/2D1		
CD200 BV421	Biolegend/OX104	CD19 BV421	BD/HIB19		
CD40 BV480	BD/5C3	CD5 BV510	Biolegend/L17F12		
CD43 BV605	BD/1G10				
CD38 BV786	BD/HIT2				
CD3 BUV395	BD/SK7				
CD10 BUV737	BD/HI10a				
CD45 BUV805	BD/H130				

18-2 Suivi des autres SPLC B :

Le diagnostic différentiel des troubles lymphoprolifératifs B- CD5+ (LPD-B) était souvent basé sur un Diagnostic immunophénotypique. Le système de notation (score de Matutes) comprenant 5 marqueurs : sIg, CD5, CD23, FMC7 et CD22. Ce score variait de 0 à 5 et a été calculé en attribuant 1 point pour l'expression de CD5 ou CD23, 1 point pour faible ou manque d'expression de CD79b, sIg ou CD20. Cependant, le diagnostic différentiel des troubles lymphoprolifératifs B- CD5+ (LPD-B) peut être difficile en raison de chevauchement des caractéristiques cliniques, cellulaires/immunophénotypiques et moléculaires. Les recommandations de l'initiative européenne de recherche sur la LLC (ERIC) par la cytométrie en flux comprennent des marqueurs clés comme CD43, CD79b, CD81, CD200, CD10 et ROR1 pour le Diagnostic différentiel ainsi que la détection subséquente de maladie résiduelle (MRD).

Basé sur le panel ERIC, un autre système de notation immunophénotypique a ensuite été proposé. Ce score, comprenant 9 marqueurs (CD5, CD23, CD79b, CD20, CD43, CD81, CD10, CD200 et ROR1) permet un diagnostic différentiel des différents CD5 + B-LPD. Les catégories suivantes de CD5+ B-LPD peuvent être différenciées : LLC, Waldenström (WM) - Lymphome de la zone marginale (MZL), Leucémie à tricholeucocytes (HCL), lymphome folique (LF) et lymphome diffus à grandes cellules B (DLBL). La cytométrie en flux multi paramètres a récemment été validée par ERIC pour la quantification des cellules résiduelles (MRD) et en extension des approches précédentes.

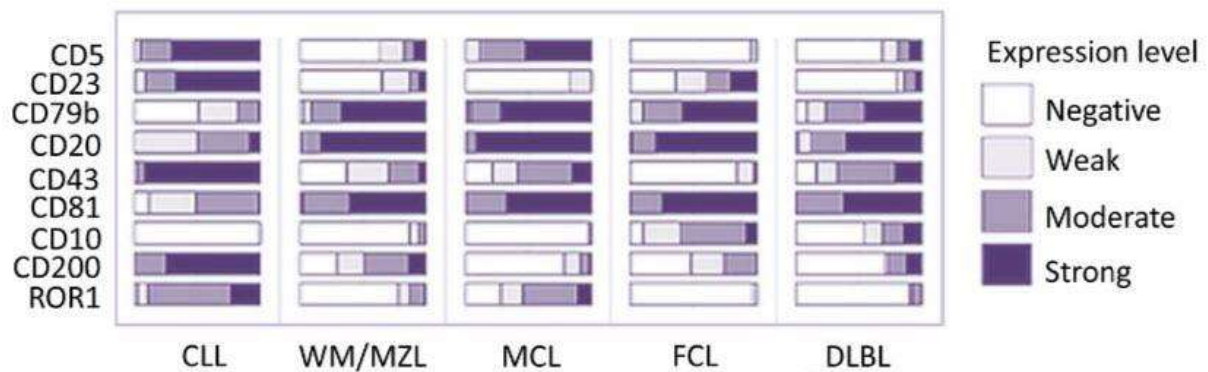


Figure 79: Le Diagnostic différentiel des troubles lymphoprolifératifs B CD5+.

Modèle d'expression de marqueurs dans différents troubles lymphoprolifératifs B CD5 +. LLC, leucémie lymphoïde chronique ; MW, Macroglobulinémie de Waldenström ; MZL, cellules B de la zone marginale non hodgkiniennes lymphome ; MCL, lymphome à cellules du manteau ; FCL, lymphome du centre folliculaire ; DLBL, lymphome diffus à grandes cellules B.

Les tricholeucocytes sont caractérisés par un phénotype assez particulier grâce à la coexpression des marqueurs CD103, CD25 et CD11c, la leucémie à tricholeucocytes est ainsi une autre (en plus de la LLC) hémopathie de choix pour évaluer la MRD. En cas de perte d'expression du CD103, il est possible d'étudier le CD123 et le LAIR-1, positifs sur les tricholeucocytes.¹⁹¹ Dû à la rareté de cette hémopathie et son faible passage sanguin, l'évaluation de la MRD par cytométrie en flux est largement moins bien documentée que dans la LLC. Le lymphome folliculaire et le lymphome à cellules de manteau sont aussi de bons exemples pour les études de MRD en raison de leur fréquence relativement élevée, leur infiltration médullaire et une

dissémination sanguine, ainsi que leur sensibilité aux immunochimiothérapies récentes. Le lymphome folliculaire et le Lymphome à cellules de manteau coexpriment certaines caractéristiques phénotypiques, respectivement la positivité du CD10 et l'association CD5+CD23- qui, associées à la monotypie de la chaîne légère, peuvent être un élément clé pour l'évaluation d'une MRD.

CONCLUSION

L'immunophénotypage par cytométrie en flux permet ainsi l'identification de la lignée à partir de laquelle dérive la prolifération lymphomateuse. la classification de la pathologie, l'évaluation du pronostic et la détection de la maladie résiduelle minimale (MRD), celle-ci n'est réellement développée que pour la LLC .En effet, plusieurs obstacles existent encore pour que cette approche soit généralisable à tous les SLP-B : la nécessité d'avoir une combinaison phénotypique spécifique des cellules tumorales, la présence possible de modifications phénotypiques après traitement, la nécessité de sensibilités très élevées, les niveaux limités de standardisation obtenus à ce jour. Les développements présents et futurs de l'évaluation de la MRD par CMF devront avoir pour objectif de résoudre ces limitations.



RESUMES

RESUME

Titre : Apport de la cytométrie en flux dans le Diagnostic et le suivi des SLPC B

Auteur : Hajar Bouaouda

Directeur de thèse : Professeur A. BELMEKKI

Mots clés : Cytométrie en flux, syndromes lymphoprolifératifs B , immunophénotypage

La cytométrie en flux est une technique objective, sensible et quantitative qui permet de mesurer simultanément et très rapidement plusieurs paramètres sur un nombre important de cellules. Ces propriétés font de la CMF une technique particulièrement adaptée à l'analyse des populations cellulaires complexes, des événements rares et aux études quantitatives. Elle représente une étape essentielle dans le Diagnostic et le suivi de la plupart des hémopathies malignes. Les cytomètres de flux actuellement disponibles permettent l'obtention de résultats rapides et fiables, avec des paramètres de taille et de structure des cellules, ainsi que des paramètres de fluorescence spécifiques grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux couplés à des fluorochromes. Son intérêt est majeur dans le diagnostic des syndromes lymphoprolifératifs chroniques à dissémination sanguine, où l'immunophénotypage permet l'identification de la lignée en cause, B ou T. La confirmation d'une monotypie, l'existence d'un trou phénotypique, la perte d'expression d'un marqueur physiologique ou l'expression d'un marqueur aberrant permettent de suspecter le caractère pathologique de la prolifération. L'immunophénotypage permet ainsi l'identification de la lignée à partir de laquelle dérive la prolifération lymphomateuse, elle représente un outil de choix pour mieux comprendre la physiopathologie des hémopathies malignes, la classification de la pathologie, l'évaluation du pronostic et la détection de la maladie résiduelle minimale (MRD). Enfin, dans la plupart des hémopathies qui peuvent bénéficier d'un traitement éradicateur, elle permet la quantification de la maladie résiduelle minimale et apporte ainsi aux cliniciens des arguments prédictifs de la rechute ou d'une longue survie, ainsi que de nouvelles informations significatives dans l'évaluation de la réponse thérapeutique et la prédiction de l'évolution clinique.

ABSTRACT

Title : Contribution of flow cytometry in the diagnosis and monitoring of B- CLPD

Author : Hajar Bouaouda

Thesis director : Professor A. BELMEKKI

Key words : Flow cytometry, B lymphoproliferative syndroms, immunophenotyping

Flow cytometry is an objective, sensitive and quantitative technique which makes it possible to measure several parameters simultaneously and very quickly on a large number of cells. These properties make CMF a particularly suitable technique for the analysis of complex cell populations, rare events and for quantitative studies. It represents an essential step in the diagnosis and follow-up of most hematological malignancies. Currently available flow cytometers provide fast and reliable results, with cell size and structure parameters, as well as specific fluorescence parameters through the use of monoclonal antibodies coupled with fluorochromes. Its interest is major in the diagnosis of chronic lymphoproliferative syndromes with blood dissemination, where immunophenotyping allows the identification of the line in question, B or T. The confirmation of a monotypy, the existence of a phenotypic gap, the loss of expression of a physiological marker or the expression of an aberrant marker makes it possible to suspect the pathological nature of the proliferation. Immunophenotyping thus allows the identification of the line from which the lymphomatous proliferation derives, it represents a tool of choice to better understand the physiopathology of malignant hemopathies, the classification of the pathology, the evaluation of the prognosis and the detection of minimal residual disease (MRD). Finally, in most hemopathies that can benefit from eradicated treatment, it allows the quantification of minimal disease and thus provides clinicians with arguments predicting relapse or long survival, as well as new significant information in assessment of therapeutic response and prediction of clinical course.

ملخص:

العنوان: مساهمة قياس التدفق الخلوي في تشخيص ومتابعة اضطرابات التكاثر اللغفاوي المزمنة ب

المؤلف: هاجر بوعوده

الأستاذ المشرف: عبد القادر بالمكي

الكلمات الأساسية: قياس التدفق الخلوي، متلازمات التكاثر اللغفاوي ب، التتميط المناعي

قياس التدفق الخلوي هو تقنية موضوعية وحساسة وكمية تمكن من قياس العديد من المعلمات في وقت واحد وبسرعة كبيرة على عدد كبير من الخلايا. تجعل هذه الخصائص هذه التقنية مناسبة بشكل خاص لتحليل مجموعات الخلايا المعقدة والأحداث النادرة والدراسات الكمية. يمثل خطوة أساسية في تشخيص ومتابعة معظم أورام الدم الخبيثة. تسمح مقاييس التدفق الخلوي المتوفرة حاليًا بالحصول على نتائج سريعة وموثوقة، عن حجم الخلية وبنيتها، إضافة إلى خاصيات الإشعاع المحددة بفضل استخدام الأجسام المضادة المقترنة بالفلورسنت. هذه التقنية لها أهمية كبيرة في تشخيص متلازمات التكاثر اللغفاوي المزمن ب، حيث يسمح التتميط المناعي بتحديد المجموعة المعنية أ أو ب. التتميط المناعي يسمح بتحديد الخط الذي يُشتق منه التكاثر اللغفاوي، وهو يمثل أداة مهمة لفهم علم وظائف الأعضاء لأمراض الدم الخبيثة بشكل أفضل، تصنيف الأمراض، تقييم التشخيص واكتشاف الحد الأدنى من المرض المتبقي. أخيرًا، في معظم حالات اعتلال الدم التي يمكن أن تستفيد من العلاج الاستئصالي، فإنه يسمح بتقدير الحد الأدنى من المرض المتبقي، وبالتالي يزود الأطباء بالعلامات التي تنتبأ بالانتكاس أو البقاء على قيد الحياة لفترة طويلة، بالإضافة إلى معلومات مهمة جديدة في تقييم الاستجابة العلاجية والتنبؤ بالمسار السريري.



BIBLIOGRAPHIE

- ¹ Rachel Golub et Ana Cumano, « Embryonic Hematopoiesis », *Blood Cells, Molecules & Diseases* 51, n° 4 (décembre 2013): 226-31, <https://doi.org/10.1016/j.bcmed.2013.08.004>.
- ² J. Hoggatt et L.M. Pelus, « Hematopoiesis », in *Brenner's Encyclopedia of Genetics* (Elsevier, 2013), 418-21, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00686-0>.
- ³ Jerrold M. Ward, Sindhu Cherian, et Michael A. Linden, « Hematopoietic and Lymphoid Tissues », in *Comparative Anatomy and Histology* (Elsevier, 2018), 365-401, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802900-8.00019-1>.
- ⁴ DOULATOV, Sergei, NOTTA, Faiyaz, LAURENTI, Elisa, et al. Hematopoiesis: a human perspective. *Cell stem cell*, 2012, vol. 10, no 2, p. 120-136.
- ⁵ James S. Lowe et Peter G. Anderson, « Blood Cells », in *Stevens Lowes Human Histology* (Elsevier, 2015), 105-22, <https://doi.org/10.1016/B978-0-7234-3502-0.00007-3>.
- ⁶ Chaaba, H., and S. Piperno-Neumann. "Facteurs de croissance hématopoïétiques." *Thérapeutique du cancer*. Springer, Paris, 2011. 893-908.
- ⁷ Nemeth, Michael J., and David M. Bodine. "Regulation of hematopoiesis and the hematopoietic stem cell niche by Wnt signaling pathways." *Cell research* 17.9 (2007): 746-758.
- ⁸ VALDES SOCIN, Hernan Gonzalo. "La vitamine B12: ce que nous savons et ce qui reste à élucider." (2019).
- ⁹ James S. Lowe et Peter G. Anderson, « Immune System », in *Stevens Lowes Human Histology* (Elsevier, 2015), 123-42, <https://doi.org/10.1016/B978-0-7234-3502-0.00008-5>.
- ¹⁰ Kimberly J. Payne et Gay M. Crooks, « Human Hematopoietic Lineage Commitment: Payne & Crooks · Human Hematopoietic Lineage Commitment », *Immunological Reviews* 187, n° 1 (septembre 2002): 48-64, <https://doi.org/10.1034/j.1600-065X.2002.18705.x>.
- ¹¹ J Palis, « Yolk-sac hematopoiesis The first blood cells of mouse and man », *Experimental Hematology* 29, n° 8 (août 2001): 927-36, [https://doi.org/10.1016/S0301-472X\(01\)00669-5](https://doi.org/10.1016/S0301-472X(01)00669-5).
- ¹² Kenneth Kaushansky et al., « Preface », in *Williams Hematology, 9e*, Book, Section vol. (New York, NY: McGraw-Hill Education, 2015), accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1121067129.
- ¹³ Richard R. Hardy et Kyoko Hayakawa, « B Cell Development Pathways », *Annual Review of Immunology* 19, n° 1 (avril 2001): 595-621, <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.595>.
- ¹⁴ Takashi Nagasawa, « Microenvironmental Niches in the Bone Marrow Required for B-Cell Development », *Nature Reviews Immunology* 6, n° 2 (février 2006): 107-16, <https://doi.org/10.1038/nri1780>.
- ¹⁵ Damien Reynaud et al., « Reynaud, D., A Demarco, I., L Reddy, K., Schjerven, H., Bertolino, E., Chen, Z., ... Singh, H. (2008). Regulation of B Cell Fate Commitment and Immunoglobulin Heavy-Chain Gene Rearrangements by Ikaros. *Nature Immunology*, 9(8), 927–936.

Doi:10.1038/Ni.1626 », *Nature Immunology* 9, n° 8 (août 2008): 927-36, <https://doi.org/10.1038/ni.1626>.

¹⁶ Anne Plonquet, « Différenciation lymphocytaire B normale », *Revue Francophone des Laboratoires* 2013, n° 452 (mai 2013): 27-35, [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(13\)72030-6](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(13)72030-6).

¹⁷ Jean Feuillard et Martine Raphaël, « Différenciation lymphocytaire B et lymphomes B périphériques », *Hématologie* 6, n° 5 (21 décembre 2000): 345-59.

¹⁸ Rudi W. Hendriks et Sabine Middendorp, « The Pre-BCR Checkpoint as a Cell-Autonomous Proliferation Switch », *Trends in Immunology* 25, n° 5 (mai 2004): 249-56, <https://doi.org/10.1016/j.it.2004.02.011>.

¹⁹ « B cell immunopoiesis: visualizing the impact of CD40 engagement on the course of T cell-independent immune responses in an Ig transgenic system - Erickson - 2000 - European Journal of Immunology - Wiley Online Library », consulté le 4 février 2022, [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/1521-4141\(200011\)30:11%3C3121::AID-IMMU3121%3E3.0.CO;2-M](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/1521-4141(200011)30:11%3C3121::AID-IMMU3121%3E3.0.CO;2-M).

²⁰ Feuillard, Jean, and Martine Raphaël. "Différenciation lymphocytaire B et lymphomes B périphériques." *Hématologie* 6.5 (2000): 345-59.

²¹ Hardy, Richard R., and Kyoko Hayakawa. "B cell development pathways." *Annual review of immunology* 19.1 (2001): 595-621.

²² R. Germi et al., « Infections à virus Epstein-Barr », *EMC - Maladies infectieuses* 8, n° 4 (janvier 2011): 1-14, [https://doi.org/10.1016/S1166-8598\(11\)50125-5](https://doi.org/10.1016/S1166-8598(11)50125-5).

²³ Elsevier Masson, « Lymphomagenèse au cours de l'infection par le VIH », EM-Consulte, consulté le 5 février 2022, <https://www.em-consulte.com/article/74850/lymphomagenese-au-cours-de-l-infection-par-le-vih>.

²⁴ Marc Seifert, René Scholtysik, et Ralf Küppers, « Origin and Pathogenesis of B Cell Lymphomas », in *Lymphoma*, éd. par Ralf Küppers, vol. 971, *Methods in Molecular Biology* (Totowa, NJ: Humana Press, 2013), 1-25, https://doi.org/10.1007/978-1-62703-269-8_1.

²⁵ Bruneau, Julie, Danielle Canioni, and Thierry Jo Molina. "Révision 2016/2017 de la classification OMS des hémopathies lymphoïdes matures: ce qui va changer dans la pratique quotidienne." *Revue Francophone des Laboratoires* 2017.488 (2017): 39-48.

²⁶ TROUSSARD, Xavier, MOUNIER, Morgane, CORNET, Édouard, et al. Épidémiologie des syndromes lymphoprolifératifs chroniques B. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2021, vol. 2021, no 532, p. 26-31.

²⁷ Elsevier Masson, « Les lymphomes au Sud du Maroc : étude descriptive sur les cinq dernières années », EM-Consulte, consulté le 5 février 2022, <https://www.em-consulte.com/article/1447172/les-lymphomes-au-sud-du-maroc -etude-descriptive-s>.

²⁸ H. Jouault et M. Imbert, « La cytométrie en flux: intérêt et applications en hématologie », *Revue Française des Laboratoires* 1995, n° 275 (avril 1995): 29-35, [https://doi.org/10.1016/S0338-9898\(95\)80058-1](https://doi.org/10.1016/S0338-9898(95)80058-1).

-
- ²⁹ Carole Emile, « Cytométrie en flux appliquée à l'hématologie », *Option/Bio* 30, n° 599-600 (juin 2019): 15-16, [https://doi.org/10.1016/S0992-5945\(19\)30234-X](https://doi.org/10.1016/S0992-5945(19)30234-X).
- ³⁰ Katherine M. McKinnon, « Flow Cytometry: An Overview », *Current Protocols in Immunology* 120, n° 1 (janvier 2018), <https://doi.org/10.1002/cpim.40>.
- ³¹ Understanding Flow Cytometry L. Zafrani · G. Monneret · pour la Commission de Recherche Translationnelle de la SRLF Reçu le 24 septembre 2017 ; accepté le 11 octobre 2017
- ³² Aysun Adan et al., « Flow Cytometry: Basic Principles and Applications », *Critical Reviews in Biotechnology* 37, n° 2 (17 février 2017): 163-76, <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1128876>.
- ³³ H. Jouault et M. Imbert, « La cytométrie en flux: intérêt et applications en hématologie », *Revue Française des Laboratoires* 1995, n° 275 (avril 1995): 29-35, [https://doi.org/10.1016/S0338-9898\(95\)80058-1](https://doi.org/10.1016/S0338-9898(95)80058-1).
- ³⁴ H. Merle-Béral et M. Le Garff-Tavernier, « Immunophénotypage des hémopathies malignes par cytométrie de flux », *EMC - Hématologie* 3, n° 3 (janvier 2008): 1-12, [https://doi.org/10.1016/S1155-1984\(08\)47155-8](https://doi.org/10.1016/S1155-1984(08)47155-8).
- ³⁵ J.D. Tario et P.K. Wallace, « Reagents and Cell Staining for Immunophenotyping by Flow Cytometry », in *Pathobiology of Human Disease* (Elsevier, 2014), 3678-3701, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.07104-5>.
- ³⁶ James W. Goding, « Immunofluorescence », in *Monoclonal Antibodies* (Elsevier, 1996), 352-99, <https://doi.org/10.1016/B978-012287023-1/50060-2>.
- ³⁷ Szalóki, Gábor, and Katalin Goda. "Compensation in multicolor flow cytometry." *Cytometry Part A* 87.11 (2015): 982-985.
- ³⁸ P Gane, « La cytométrie en flux en immunohématologie », *Transfusion Clinique et Biologique* 9, n° 4 (octobre 2002): 271-79, [https://doi.org/10.1016/S1246-7820\(02\)00255-0](https://doi.org/10.1016/S1246-7820(02)00255-0).
- ³⁹ Elsevier Masson, « Étapes préanalytiques pour la cytométrie en flux appliquée aux hémopathies », EM-Consulte, consulté le 7 février 2022, <https://www.em-consulte.com/article/276575/etapes-preanalytiques-pour-la-cytometrie-en-flux-a>.
- ⁴⁰ Andrea Cossarizza et al., « Guidelines for the Use of Flow Cytometry and Cell Sorting in Immunological Studies * », *European Journal of Immunology* 47, n° 10 (octobre 2017): 1584-1797, <https://doi.org/10.1002/eji.201646632>.
- ⁴¹ Leonore A Herzenberg et al., « Interpreting Flow Cytometry Data: A Guide for the Perplexed », *Nature Immunology* 7, n° 7 (juillet 2006): 681-85, <https://doi.org/10.1038/ni0706-681>.
- ⁴² Richard R. Jahan-Tigh et al., « Flow Cytometry », *Journal of Investigative Dermatology* 132, n° 10 (octobre 2012): 1-6, <https://doi.org/10.1038/jid.2012.282>.
- ⁴³ Chris P. Verschoor et al., « An Introduction to Automated Flow Cytometry Gating Tools and Their Implementation », *Frontiers in Immunology* 6 (27 juillet 2015), <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00380>.

-
- ⁴⁴ GANE, P. La cytométrie en flux en immunohématologie. *Transfusion clinique et biologique*, 2002, vol. 9, no 4, p. 271-279.
- ⁴⁵ Marie-Christine Béné et Francis Lacombe, « Place de la cytométrie en flux dans le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës », *Revue Francophone des Laboratoires* 2015, n° 471 (avril 2015): 35-41, [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(15\)30072-1](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(15)30072-1).
- ⁴⁶ Steven J. Kussick et al., « Prominent Clonal B-Cell Populations Identified by Flow Cytometry in Histologically Reactive Lymphoid Proliferations », *American Journal of Clinical Pathology* 121, n° 4 (avril 2004): 464-72, <https://doi.org/10.1309/4EJ8T3R2ERKQ61WH>.
- ⁴⁷ Magali Le Garff-Tavernier, Myrto Costopoulos, et Hélène Merle-Béral, « Place de la cytométrie en flux dans le diagnostic et le suivi des syndromes lymphoprolifératifs B », *Revue Francophone des Laboratoires* 2013, n° 452 (mai 2013): 37-48, [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(13\)72031-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(13)72031-8).
- ⁴⁸ Christophe Bontoux, Julie Bruneau, et Thierry Jo Molina, « Classification anatomopathologique des syndromes lymphoprolifératifs B chroniques », *La Presse Médicale* 48, n° 7-8 (juillet 2019): 792-806, <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2019.07.022>.
- ⁴⁹ Michael Hallek et al., « IwCLL Guidelines for Diagnosis, Indications for Treatment, Response Assessment, and Supportive Management of CLL », *Blood* 131, n° 25 (21 juin 2018): 2745-60, <https://doi.org/10.1182/blood-2017-09-806398>.
- ⁵⁰ X. Troussard, « Nouveautés sur les hémopathies lymphoïdes chroniques B matures », *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 28, n° 4 (août 2013): 174-82, <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2013.03.001>.
- ⁵¹ Nathalie Jacque et Véronique Leblond, « La leucémie lymphoïde chronique : mise au point », *La Presse Médicale* 48, n° 7-8 (juillet 2019): 807-15, <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2019.07.019>.
- ⁵² Jan A. Burger et John G. Gribben, « The Microenvironment in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) and Other B Cell Malignancies: Insight into Disease Biology and New Targeted Therapies », *Seminars in Cancer Biology* 24 (février 2014): 71-81, <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2013.08.011>.
- ⁵³ Jean-François Lesesve et Pierre Feugier, « Leucémie lymphoïde chronique : de la biologie à la thérapeutique », *Revue Francophone des Laboratoires* 2021, n° 532 (mai 2021): 32-43, [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(21\)00140-4](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(21)00140-4).
- ⁵⁴ Pierre-Antoine Deglesne et al., « Survival Response to B-Cell Receptor Ligation Is Restricted to Progressive Chronic Lymphocytic Leukemia Cells Irrespective of Zap70 Expression », *Cancer Research* 66, n° 14 (15 juillet 2006): 7158-66, <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-0085>.
- ⁵⁵ Anne Quinquenel, « Signalisation du BCR et rôle du microenvironnement dans la leucémie lymphoïde chronique », 2014, 4.

-
- ⁵⁶ Farrukh T. Awan et John C. Byrd, « Chronic Lymphocytic Leukemia », in *Abeloff's Clinical Oncology* (Elsevier, 2020), 1850-1871.e5, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47674-4.00099-2>.
- ⁵⁷Blaser, S., M. Nagy, and J. Stirnemann. "Leucémielymphoïde chronique." *Rev Med Suisse* 9 (2013): 1870-4.
- ⁵⁸ Paolo Strati et Tait D. Shanafelt, « Monoclonal B-Cell Lymphocytosis and Early-Stage Chronic Lymphocytic Leukemia: Diagnosis, Natural History, and Risk Stratification », *Blood* 126, n° 4 (23 juillet 2015): 454-62, <https://doi.org/10.1182/blood-2015-02-585059>.
- ⁵⁹ S. Evrard et al., « Facteurs pronostiques de la leucémie lymphoïde chronique : apport des marqueurs biologiques récents », *Annales de Biologie Clinique* 63, n° 6 (30 novembre 2005): 589-97.
- ⁶⁰ E Matutes et al., « The Immunological Profile of B-Cell Disorders and Proposal of a Scoring System for the Diagnosis of CLL », *Leukemia* 8, n° 10 (1 octobre 1994): 1640-45.
- ⁶¹ E. Matutes et D. Catovsky, « The Value of Scoring Systems for the Diagnosis of Biphentotypic Leukemia and Mature B-Cell Disorders », *Leukemia & Lymphoma* 13 Suppl 1 (1994): 11-14, <https://doi.org/10.3109/10428199409052666>.
- ⁶² E. J. Moreau et al., « Improvement of the Chronic Lymphocytic Leukemia Scoring System with the Monoclonal Antibody SN8 (CD79b) », *American Journal of Clinical Pathology* 108, n° 4 (octobre 1997): 378-82, <https://doi.org/10.1093/ajcp/108.4.378>.
- ⁶³ Béné et Lacombe, « Place de la cytométrie en flux dans le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës ».
- ⁶⁴ Giovanni D'Arena et al., « CD200 Included in a 4-Marker Modified Matutes Score Provides Optimal Sensitivity and Specificity for the Diagnosis of Chronic Lymphocytic Leukaemia », *Hematological Oncology* 36, n° 3 (août 2018): 543-46, <https://doi.org/10.1002/hon.2510>.
- ⁶⁵M.S. Dilhuydy « Monoclonal B-cell lymphocytosis : a complex entity », *Correspondances en Onco-Hématologie - Vol. VIII - n° 2 - Mars-avril 2013*.
- ⁶⁶ Timothy G. Call et al., « Incidence of Chronic Lymphocytic Leukemia and High-Count Monoclonal B-Cell Lymphocytosis Using the 2008 Guidelines », *Cancer* 120, n° 13 (2014): 2000-2005, <https://doi.org/10.1002/cncr.28690>.
- ⁶⁷ « The Immunoglobulin Gene Repertoire of Low-Count Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) "like Monoclonal B Lymphocytosis Is Different from CLL: Diagnostic Implications for Clinical Monitoring | Elsevier Enhanced Reader », <https://doi.org/10.1182/blood-2008-09-176933>.
- ⁶⁸ Elsa Maitre et Xavier Troussard, « Monoclonal B-cell lymphocytosis », *Large Granular Lymphocytic and Other Rare Lymphoid Leukemias* 32, n° 3 (1 septembre 2019): 229-38, <https://doi.org/10.1016/j.beha.2019.06.002>.
- ⁶⁹ M. C. Lanasa et al., « Immunophenotypic and Gene Expression Analysis of Monoclonal B-Cell Lymphocytosis Shows Biologic Characteristics Associated with Good Prognosis CLL », *Leukemia* 25, n° 9 (septembre 2011): 1459-66, <https://doi.org/10.1038/leu.2011.117>.

-
- ⁷⁰ Florence Nguyen-Khac et Élise Chapiro, « Leucémie prolymphocytaire B », *Revue Francophone des Laboratoires* 2021, n° 532 (2021): 50-55, [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(21\)00142-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(21)00142-8).
- ⁷¹ J. V. Melo, D. Catovsky, et D. A. Galton, « The Relationship between Chronic Lymphocytic Leukaemia and Prolymphocytic Leukaemia. I. Clinical and Laboratory Features of 300 Patients and Characterization of an Intermediate Group », *British Journal of Haematology* 63, n° 2 (juin 1986): 377-87.
- ⁷² B Krishnan, E Matutes, et C Dearden, « Prolymphocytic Leukemias », *Seminars in Oncology* 33, n° 2 (avril 2006): 257-63, <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2006.01.015>.
- ⁷³ Claire Dearden, « Management of prolymphocytic leukemia », *Hematology* 2015, n° 1 (5 décembre 2015): 361-67, <https://doi.org/10.1182/asheducation-2015.1.361>.
- ⁷⁴ Aude Collignon et al., « Prolymphocytic Leukemia: New Insights in Diagnosis and in Treatment », *Current Oncology Reports* 19, n° 4 (21 mars 2017): 29, <https://doi.org/10.1007/s11912-017-0581-x>.
- ⁷⁵ Faramarz Naeim et al., « B-Cell Prolymphocytic Leukemia », in *Atlas of Hematopathology* (Elsevier, 2013), 351-56, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385183-3.00028-0>.
- ⁷⁶ Matutes et al., « The Immunological Profile of B-Cell Disorders and Proposal of a Scoring System for the Diagnosis of CLL ».
- ⁷⁷ Florence Nguyen-Khac et Élise Chapiro, « Leucémie prolymphocytaire B », *Revue Francophone des Laboratoires* 2021, n° 532 (1 mai 2021): 50-55, [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(21\)00142-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(21)00142-8).
- ⁷⁸ Elise Chapiro et al., « Genetic Characterization of B-Cell Prolymphocytic Leukemia: A Prognostic Model Involving MYC and TP53 », *Blood* 134, n° 21 (21 novembre 2019): 1821-31, <https://doi.org/10.1182/blood.2019001187>.
- ⁷⁹ Birgitta Sander, « Mantle Cell Lymphoma: Recent Insights into Pathogenesis, Clinical Variability, and New Diagnostic Markers », *Seminars in Diagnostic Pathology* 28, n° 3 (août 2011): 245-55, <https://doi.org/10.1053/j.semdp.2011.02.010>.
- ⁸⁰ Karin E. Smedby et Henrik Hjalgrim, « Epidemiology and Etiology of Mantle Cell Lymphoma and Other Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes », *Seminars in Cancer Biology*, Mantle Cell Lymphoma, 21, n° 5 (1 novembre 2011): 293-98, <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2011.09.010>.
- ⁸¹ Julie M. Vose, « Mantle Cell Lymphoma: 2017 Update on Diagnosis, Risk-Stratification, and Clinical Management », *American Journal of Hematology* 92, n° 8 (2017): 806-13, <https://doi.org/10.1002/ajh.24797>.
- ⁸² Fanny Baran-Marszak et Florence Cymbalista, « Rôle de la signalisation du BCR dans le lymphome à cellules du manteau », *Correspondances en onco-hématologie* 9, n° 6 (2014): 16-18.

-
- ⁸³ R. Oinonen et al., « Mantle Cell Lymphoma: Clinical Features, Treatment and Prognosis of 94 Patients », *European Journal of Cancer* 34, n° 3 (1 février 1998): 329-36, [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(97\)10056-9](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(97)10056-9).
- ⁸⁴ Birgitta Sander, « Mantle Cell Lymphoma: Recent Insights into Pathogenesis, Clinical Variability, and New Diagnostic Markers », *Seminars in Diagnostic Pathology* 28, n° 3 (août 2011): 245-55, <https://doi.org/10.1053/j.semdp.2011.02.010>.
- ⁸⁵ Juehua Gao et al., « Immunophenotypic Variations in Mantle Cell Lymphoma », *American Journal of Clinical Pathology* 132, n° 5 (1 novembre 2009): 699-706, <https://doi.org/10.1309/AJCPV8LN5ENMZOVY>.
- ⁸⁶ Defossez G, Le Guyader-Peyrou S. Uhry Z. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Etude à partir des registres des cancers du réseau Francim. Résultats préliminaires. Synthèse. Saint-Maurice : Santé Publique France, 2109. 20p
- ⁸⁷ Lucile Baseggio et Catherine Thieblemont, « Aspects biologiques et thérapeutiques des lymphomes de la zone marginale », *Revue Francophone des Laboratoires* 2021, n° 532 (1 mai 2021): 56-63, [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(21\)00143-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(21)00143-X).
- ⁸⁸ Francesco Bertoni, Davide Rossi, et Emanuele Zucca, « Recent Advances in Understanding the Biology of Marginal Zone Lymphoma », *F1000Research* 7 (28 mars 2018): 406, <https://doi.org/10.12688/f1000research.13826.1>.
- ⁸⁹ L. M. Staudt, « Oncogenic Activation of NF- B », *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2, n° 6 (1 juin 2010): a000109-a000109, <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000109>.
- ⁹⁰ Colleen M. Witt et al., « Notch2 Haploinsufficiency Results in Diminished B1 B Cells and a Severe Reduction in Marginal Zone B Cells », *The Journal of Immunology* 171, n° 6 (15 septembre 2003): 2783-88, <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.6.2783>.
- ⁹¹ A Clipson et al., « KLF2 Mutation Is the Most Frequent Somatic Change in Splenic Marginal Zone Lymphoma and Identifies a Subset with Distinct Genotype », *Leukemia* 29, n° 5 (mai 2015): 1177-85, <https://doi.org/10.1038/leu.2014.330>.
- ⁹² Valeria Spina et al., « The Genetics of Nodal Marginal Zone Lymphoma », *Blood* 128, n° 10 (8 septembre 2016): 1362-73, <https://doi.org/10.1182/blood-2016-02-696757>.
- ⁹³ Emanuele Zucca et al., « Emerging Role of Infectious Etiologies in the Pathogenesis of Marginal Zone B-Cell Lymphomas », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 20, n° 20 (15 octobre 2014): 5207-16, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0496>.
- ⁹⁴ Elías Gracia et al., « Low Prevalence of Chlamydia Psittaci in Ocular Adnexal Lymphomas from Cuban Patients », *Leukemia & Lymphoma* 48, n° 1 (janvier 2007): 104-8, <https://doi.org/10.1080/10428190600908174>.
- ⁹⁵ L. Couronné et al., « From Hepatitis C Virus Infection to B-Cell Lymphoma », *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology* 29, n° 1 (1 janvier 2018): 92-100, <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx635>.

-
- ⁹⁶ A. Tierens et al., « Mutation Analysis of the Rearranged Immunoglobulin Heavy Chain Genes of Marginal Zone Cell Lymphomas Indicates an Origin from Different Marginal Zone B Lymphocyte Subsets », *Blood* 91, n° 7 (1 avril 1998): 2381-86.
- ⁹⁷ Petruta Violeta Filip et al., « MALT lymphoma: epidemiology, clinical diagnosis and treatment », *Journal of Medicine and Life* 11, n° 3 (2018): 187-93, <https://doi.org/10.25122/jml-2018-0035>.
- ⁹⁸ Tamar Tadmor et Aaron Polliack, « Nodal Marginal Zone Lymphoma: Clinical Features, Diagnosis, Management and Treatment », *Best Practice & Research Clinical Haematology, Marginal Zone Lymphoma and MALT Lymphomas*, 30, n° 1 (1 mars 2017): 92-98, <https://doi.org/10.1016/j.beha.2016.08.026>.
- ⁹⁹ Miguel A. Piris, Arantza Onaindía, et Manuela Mollejo, « Splenic Marginal Zone Lymphoma », *Best Practice & Research Clinical Haematology, Marginal Zone Lymphoma and MALT Lymphomas*, 30, n° 1 (1 mars 2017): 56-64, <https://doi.org/10.1016/j.beha.2016.09.005>.
- ¹⁰⁰ Manuela Mollejo et al., « Nodal and Splenic Marginal Zone B Cell Lymphomas », *Hematological Oncology* 23, n° 3-4 (septembre 2005): 108-18, <https://doi.org/10.1002/hon.762>.
- ¹⁰¹ Luca Arcaini et al., « Nodal Marginal Zone Lymphoma: Current Knowledge and Future Directions of an Heterogeneous Disease », *European Journal of Haematology* 83, n° 3 (2009): 165-74, <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2009.01301.x>.
- ¹⁰² K. N. Naresh, « Nodal Marginal Zone B-Cell Lymphoma with Prominent Follicular Colonization - Difficulties in Diagnosis: A Study of 15 Cases », *Histopathology* 52, n° 3 (février 2008): 331-39, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2007.02951.x>.
- ¹⁰³ Pierre Isnard et al., « Le lymphome de la zone marginale ganglionnaire », *Revue Francophone des Laboratoires* 2022, n° 538 (1 janvier 2022): 62-69, [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(21\)00379-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(21)00379-8).
- ¹⁰⁴ D Y Bai et al., « [Paediatric nodal marginal zone lymphoma: a clinicopathological study of seven cases] », *Zhonghua bing li xue za zhi = Chinese journal of pathology* 48, n° 5 (1 mai 2019): 369-72, <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2019.05.007>.
- ¹⁰⁵ Piris, Miguel A., Arantza Onaindia, and Manuela Mollejo. "Splenic marginal zone lymphoma." *Best Practice & Research Clinical Haematology* 30.1-2 (2017): 56-64.
- ¹⁰⁶ Marta Salido et al., « Cytogenetic aberrations and their prognostic value in a series of 330 splenic marginal zone B-cell lymphomas: a multicenter study of the Splenic B-Cell Lymphoma Group », *Blood* 116, n° 9 (2 septembre 2010): 1479-88, <https://doi.org/10.1182/blood-2010-02-267476>.
- ¹⁰⁷ Vito Franco, Ada Maria Florena, et Emilio Iannitto, « Splenic Marginal Zone Lymphoma », *Blood* 101, n° 7 (1 avril 2003): 2464-72, <https://doi.org/10.1182/blood-2002-07-2216>.
- ¹⁰⁸ G. Kanellis et al., « Identification of MNDA as a New Marker for Nodal Marginal Zone Lymphoma », *Leukemia* 23, n° 10 (octobre 2009): 1847-57, <https://doi.org/10.1038/leu.2009.108>.

-
- ¹⁰⁹ Navroop Nagra, Ajeet R Singhvi, et Gaurav Singhvi, « Mucosa-associated Lymphoid Tissue Lymphoma of Colon: A Case Report and Literature Review of Rare Entity », *Cureus* 12, n° 3 (s. d.): e7438, <https://doi.org/10.7759/cureus.7438>.
- ¹¹⁰ Norris Hollie et Saja Asakrah, « MALT Lymphoma of the Colon: A Clinicopathological Review », *Journal of Clinical Pathology* 73, n° 7 (juillet 2020): 378-83, <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2019-206377>.
- ¹¹¹ Chris M Bacon, Ming-Qing Du, et Ahmet Dogan, « Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma: a practical guide for pathologists », *Journal of Clinical Pathology* 60, n° 4 (avril 2007): 361-72, <https://doi.org/10.1136/jcp.2005.031146>.
- ¹¹² Phyu Thin Naing et Utkarsh Acharya, « Hairy Cell Leukemia », in *StatPearls* (Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499845/>.
- ¹¹³ Elsa Maitre et al., « Leucémie à tricholeucocytes », *La Presse Médicale* 48, n° 7, Part 1 (1 juillet 2019): 842-49, <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2019.07.026>.
- ¹¹⁴ Xavier Troussard et al., « Leucémie à tricholeucocytes », *Revue Francophone des Laboratoires* 2021, n° 532 (1 mai 2021): 44-49, [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(21\)00141-6](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(21)00141-6).
- ¹¹⁵ « The BRAF Inhibitor Vemurafenib “Highly Effective” in Relapsed/Refractory Hairy-Cell Leukemia », 30 décembre 2021, <https://ashpublications.org/ashclinicalnews/news/2359/The-BRAF-Inhibitor-Vemurafenib-Highly-Effective-in>.
- ¹¹⁶ Xavier Troussard et Edouard Cornet, « Hairy cell leukemia 2018: Update on diagnosis, risk-stratification, and treatment », *American Journal of Hematology* 92, n° 12 (décembre 2017): 1382-90, <https://doi.org/10.1002/ajh.24936>.
- ¹¹⁷ Nilima Parry-Jones et al., « Guideline for Diagnosis and Management of Hairy Cell Leukaemia (HCL) and Hairy Cell Variant (HCL-V) », *British Journal of Haematology* 191, n° 5 (décembre 2020): 730-37, <https://doi.org/10.1111/bjh.17055>.
- ¹¹⁸ Lucile Baseggio, « Le lymphome splénique diffus de la pulpe rouge (SDRPL), une nouvelle entité », *Horizon Hémato* 4, n° 04 (2014): p119-120.
- ¹¹⁹ Elif Yilmaz et al., « A Review on Splenic Diffuse Red Pulp Small B-Cell Lymphoma », *Current Oncology* 28, n° 6 (2021): 5148-54.
- ¹²⁰ Estella Matutes, « Diagnostic and therapeutic challenges in hairy cell leukemia-variant: where are we in 2021? », *Expert review of hematology* 14, n° 4 (2021): 355-63.
- ¹²¹ Jorge J. Castillo et Steven P. Treon, « Management of Waldenström macroglobulinemia in 2020 », *Hematology* 2020, n° 1 (4 décembre 2020): 372-79, <https://doi.org/10.1182/hematology.2020000121>.
- ¹²² Prashant Kapoor et al., « Diagnosis and management of Waldenström macroglobulinemia: Mayo stratification of macroglobulinemia and risk-adapted therapy (mSMART) guidelines 2016 », *JAMA oncology* 3, n° 9 (2017): 1257-65.

-
- ¹²³ Marvin J. Stone et Virginia Pascual, « Pathophysiology of Waldenström's macroglobulinemia », *Haematologica* 95, n° 3 (mars 2010): 359-64, <https://doi.org/10.3324/haematol.2009.017251>.
- ¹²⁴ Miriam Hobbs, Amie Fonder, et Yi L. Hwa, « Waldenström Macroglobulinemia: Clinical Presentation, Diagnosis, and Management », *Journal of the Advanced Practitioner in Oncology* 11, n° 4 (2020): 381-89, <https://doi.org/10.6004/jadpro.2020.11.4.5>.
- ¹²⁵ Castillo et Treon, « Management of Waldenström macroglobulinemia in 2020 ».
- ¹²⁶ S. Poulain et al., « Macroglobulinémie de Waldenström », *La Revue de Médecine Interne* 31, n° 5 (1 mai 2010): 385-94, <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2009.07.016>.
- ¹²⁷ Guy Pratt et al., « Guidelines on the Diagnosis and Management of Waldenström Macroglobulinaemia—A *British Society for Haematology* Guideline », *British Journal of Haematology*, 12 janvier 2022, bjh.18036, <https://doi.org/10.1111/bjh.18036>.
- ¹²⁸ Matthew T. Howard, Janice Hodnefield, et William G. Morice, « Immunohistochemical Phenotyping of Plasma Cells in Lymphoplasmacytic Lymphoma/Waldenström's Macroglobulinemia Is Comparable to Flow Cytometric Techniques », *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia* 11, n° 1 (février 2011): 96-98, <https://doi.org/10.3816/CLML.2011.n.018>.
- ¹²⁹ Robert A. Kyle et al., « Long-Term Follow-up of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance », *New England Journal of Medicine* 378, n° 3 (18 janvier 2018): 241-49, <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1709974>.
- ¹³⁰ « Disparities in the prevalence, pathogenesis and progression of monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma between blacks and whites | *Leukemia* », consulté le 18 février 2022, <https://www.nature.com/articles/leu2011368>.
- ¹³¹ Matthew Ho et al., « Changing Paradigms in Diagnosis and Treatment of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (MGUS) and Smoldering Multiple Myeloma (SMM) », *Leukemia* 34, n° 12 (décembre 2020): 3111-25, <https://doi.org/10.1038/s41375-020-01051-x>.
- ¹³² Li Pang et al., « Prognosis of Young Patients with Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (MGUS) », *Blood Cancer Journal* 11, n° 2 (1 février 2021): 1-8, <https://doi.org/10.1038/s41408-021-00406-6>.
- ¹³³ Shivani Seth et al., « Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance: Current Concepts and Future Prospects », *Current Hematologic Malignancy Reports* 15, n° 2 (1 avril 2020): 45-55, <https://doi.org/10.1007/s11899-020-00569-2>.
- ¹³⁴ Tarek H. Mouhieddine, Lachelle D. Weeks, et Irene M. Ghobrial, « Monoclonal gammopathy of undetermined significance », *Blood* 133, n° 23 (6 juin 2019): 2484-94, <https://doi.org/10.1182/blood.2019846782>.
- ¹³⁵ Sarika Gupta et al., « Flow Cytometric Aberrancies in Plasma Cell Myeloma and MGUS – Correlation with Laboratory Parameters », *Cytometry Part B: Clinical Cytometry* 94, n° 3 (2018): 500-508, <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21624>.

-
- ¹³⁶ María-Victoria Mateos et Ola Landgren, « MGUS and Smoldering Multiple Myeloma: Diagnosis and Epidemiology », in *Plasma Cell Dyscrasias*, éd. par Aldo M. Roccaro et Irene M. Ghobrial, Cancer Treatment and Research (Cham: Springer International Publishing, 2016), 3-12, https://doi.org/10.1007/978-3-319-40320-5_1.
- ¹³⁷ Alexis Talbot et al., « Maladies des chaînes lourdes », *Revue Francophone des Laboratoires* 2020, n° 521 (1 avril 2020): 72-80, [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30132-5](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30132-5).
- ¹³⁸ Dietlind L. Wahner-Roedler et Robert A. Kyle, « Heavy Chain Diseases », *Best Practice & Research Clinical Haematology*, Advances in the Biology and Management of Plasma Cells, 18, n° 4 (1 décembre 2005): 729-46, <https://doi.org/10.1016/j.beha.2005.01.029>.
- ¹³⁹ Marc Lecuit, Felipe Suarez, et Olivier Lortholary, « Maladie immunoproliférative de l'intestin grêle associée à *Campylobacter jejuni* », *médecine/sciences* 20, n° 6-7 (1 juin 2004): 638-40, <https://doi.org/10.1051/medsci/2004206-7638>.
- ¹⁴⁰ Claude Matuchansky, « Histoire de la maladie des chaînes alpha : de la clinique au laboratoire, un aller-retour exemplaire », *La Presse Médicale* 48, n° 1, Part 1 (1 janvier 2019): 63-67, <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2018.06.017>.
- ¹⁴¹ MD Diamantidis, I Kostopoulos, et GD Kaiafa, « Alpha heavy chain disease: a rare lymphoma hard to diagnose », *Hippokratia* 18, n° 1 (2014): 95.
- ¹⁴² Giada Bianchi et al., « The heavy chain diseases: clinical and pathologic features », *Oncology* 28, n° 1 (2014): 45-45.
- ¹⁴³ Giada Bianchi, Kenneth C. AndersonLeBow Institute for Myeloma Therapeutics and Jerome Lipper Multiple Myeloma Center, Department of Medical Oncology, Dana Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, « Gamma heavy chain disease », consulté le 18 février 2022, <http://atlasgeneticsoncology.org/Anomalies/GammaHeavyChainID1721.html>.
- ¹⁴⁴ G. Danic et al., « Association maladie des chaînes lourdes gamma et polyarthrite rhumatoïde : à propos d'une observation », *La Revue de Médecine Interne*, 75eme congrès français de médecine interne, Brest, 14-16 juin 2017, 38 (1 juin 2017): A211, <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2017.03.312>.
- ¹⁴⁵ Ingo Mrosewski et Matthias Urbank, « Gamma Heavy Chain Disease - Diagnostic Challenges in an Unusual Case and a Brief Synopsis of the Current Literature », *Clinical laboratory* 66 (30 janvier 2020): 207-10, <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2019.190623>.
- ¹⁴⁶ I. Ramasamy et Z. Rudzki, « Two Cases of γ -Heavy Chain Disease and a Review of the Literature », *Case Reports in Hematology* 2018 (2018): 4832619, <https://doi.org/10.1155/2018/4832619>.
- ¹⁴⁷ « A New Variant of Heavy-Chain Disease (μ -Chain Disease) | NEJM », consulté le 18 février 2022, <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM197005072821902>.
- ¹⁴⁸ TALBOT, Alexis, BENICHO, Nicolas, BOUTBOUL, David, et al. Maladies des chaînes lourdes. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020, vol. 2020, no 521, p. 72-80.

-
- ¹⁴⁹ Dietlind L. Wahner-Roedler et Robert A. Kyle, « μ -Heavy Chain Disease: Presentation as a Benign Monoclonal Gammopathy », *American Journal of Hematology* 40, n° 1 (1992): 56-60, <https://doi.org/10.1002/ajh.2830400112>.
- ¹⁵⁰ D. L. Wahner-Roedler et R. A. Kyle, « Mu-Heavy Chain Disease: Presentation as a Benign Monoclonal Gammopathy », *American Journal of Hematology* 40, n° 1 (mai 1992): 56-60, <https://doi.org/10.1002/ajh.2830400112>.
- ¹⁵¹ Wahner-Roedler, Dietlind L., and Robert A. Kyle. "Heavy-chain disease." *Neoplastic Diseases of the Blood* (2013): 701-728.
- ¹⁵² J. A. Vilpo et al., « δ -Heavy Chain Disease: A Study of a Case », *Clinical Immunology and Immunopathology* 17, n° 4 (1 décembre 1980): 584-94, [https://doi.org/10.1016/0090-1229\(80\)90154-3](https://doi.org/10.1016/0090-1229(80)90154-3).
- ¹⁵³ Antonio Palumbo et Kenneth Anderson, « Multiple Myeloma », *New England Journal of Medicine* 364, n° 11 (17 mars 2011): 1046-60, <https://doi.org/10.1056/NEJMra1011442>.
- ¹⁵⁴ A. Bouatay et al., « Myélome multiple : aspect clinique, diagnostic biologique et pronostic », *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 28, n° 1 (1 février 2013): 30-35, <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2012.09.001>.
- ¹⁵⁵ Rajkumar, S. Vincent. "Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management." *American journal of hematology* 95.5 (2020): 548-567.
- ¹⁵⁶ M. M. Kardum Paro et al., « Diagnostic Utility of Multiparameter Flow Cytometric Immunophenotyping in Multiple Myeloma », *Clinica Chimica Acta*, EuroMedLab 2019, 493 (1 juin 2019): S419, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.03.892>.
- ¹⁵⁷ Donna M. Weber, « Solitary Bone and Extramedullary Plasmacytoma », *Hematology* 2005, n° 1 (1 janvier 2005): 373-76, <https://doi.org/10.1182/asheducation-2005.1.373>.
- ¹⁵⁸ « Solitary Plasmacytoma: Practice Essentials, Pathophysiology, Etiology », 9 avril 2021, <https://emedicine.medscape.com/article/207233-overview#a5>.
- ¹⁵⁹ William M Mendenhall, Charles M Mendenhall, et Nancy Price Mendenhall, « Solitary Plasmacytoma of Bone and Soft Tissues », *American Journal of Otolaryngology* 24, n° 6 (1 novembre 2003): 395-99, [https://doi.org/10.1016/S0196-0709\(03\)00092-9](https://doi.org/10.1016/S0196-0709(03)00092-9).
- ¹⁶⁰ S. Ascione et al., « Caractéristiques et évolution des plasmocytomes solitaires osseux », *Revue du Rhumatisme*, 34e Congrès Français de Rhumatologie, 88 (1 décembre 2021): A68, <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2021.10.106>.
- ¹⁶¹ Fan Yang et al., « [Solitary plasmacytoma: a clinicopathologic and immunophenotypic analysis of 43 cases] », *Sichuan Da Xue Xue Bao. Yi Xue Ban = Journal of Sichuan University. Medical Science Edition* 37, n° 1 (janvier 2006): 93-96, 144.
- ¹⁶² Atalay, Figen. "The use of carfilzomib to treat extramedullary plasmacytoma and review of the literature." *Journal of Applied Hematology* 11.2 (2020): 74. .
- ¹⁶³ Richard Soutar et al., « Guidelines on the diagnosis and management of solitary plasmacytoma of bone and solitary extramedullary plasmacytoma », *Clinical oncology* 16, n° 6 (2004): 405-13.

-
- ¹⁶⁴ Bridoux, Frank, et al. "Unravelling the immunopathological mechanisms of heavy chain deposition disease with implications for clinical management." *Kidney international* 91.2 (2017): 423-434.
- ¹⁶⁵ Samih H Nasr et al., « Renal monoclonal immunoglobulin deposition disease: a report of 64 patients from a single institution », *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 7, n° 2 (2012): 231-39.
- ¹⁶⁶ Camille Cohen et al., « Randall-type monoclonal immunoglobulin deposition disease: From diagnosis to treatment », *Néphrologie & Thérapeutique* 12, n° 3 (2016): 131-39.
- ¹⁶⁷ Go Kanzaki et al., « Monoclonal immunoglobulin deposition disease and related diseases », *Journal of Nippon Medical School* 86, n° 1 (2019): 2-9.
- ¹⁶⁸ Camille Cohen et al., « Maladie de dépôts d'immunoglobulines monoclonales de type Randall : du diagnostic au traitement », *Néphrologie & Thérapeutique* 12, n° 3 (1 juin 2016): 131-39, <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2015.12.005>.
- ¹⁶⁹ Arnold Freedman et Eric Jacobsen, « Follicular Lymphoma: 2020 Update on Diagnosis and Management », *American Journal of Hematology* 95, n° 3 (2020): 316-27, <https://doi.org/10.1002/ajh.25696>.
- ¹⁷⁰ Call et al., « Incidence of Chronic Lymphocytic Leukemia and High-Count Monoclonal B-Cell Lymphocytosis Using the 2008 Guidelines ».
- ¹⁷¹ Cara Randall et Yuri Fedoriw, « Pathology and Diagnosis of Follicular Lymphoma and Related Entities », *Pathology, Lymphoma 2020: morphology, markers, molecules, WHO knows what next?*, 52, n° 1 (1 janvier 2020): 30-39, <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2019.09.010>.
- ¹⁷² Daryl Tan et Sandra J. Horning, « Follicular Lymphoma: Clinical Features and Treatment », *Hematology/Oncology Clinics of North America, Non-Hodgkin's Lymphomas: New Insights and Therapeutic Strategies*, 22, n° 5 (1 octobre 2008): 863-82, <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2008.07.013>.
- ¹⁷³ Bontoux, Christophe, Julie Bruneau, and Thierry Jo Molina. "Classification anatomopathologique des syndromes lymphoprolifératifs B chroniques." *La Presse Médicale* 48.7-8 (2019): 792-806.
- ¹⁷⁴ Emilie Mamessier et al., « Early lesions of follicular lymphoma: a genetic perspective », *Haematologica* 99, n° 3 (mars 2014): 481-88, <https://doi.org/10.3324/haematol.2013.094474>.
- ¹⁷⁵ Bruce E. King et al., « Immunophenotypic and Genotypic Markers of Follicular Center Cell Neoplasia in Diffuse Large B-Cell Lymphomas », *Modern Pathology* 13, n° 11 (novembre 2000): 1219-31, <https://doi.org/10.1038/modpathol.3880226>.
- ¹⁷⁶ Katsuyoshi Takata et al., « Gastrointestinal follicular lymphoma: current knowledge and future challenges », *Pathology International* 68, n° 1 (2018): 1-6.
- ¹⁷⁷ Akiko Miyagi Maeshima et al., « Comparison of clinicopathologic characteristics of gastric follicular lymphomas and duodenal follicular lymphomas », *Human Pathology* 65 (2017): 201-8.

-
- ¹⁷⁸ Katsuyoshi Takata et al., « Duodenal follicular lymphoma: comprehensive gene expression analysis with insights into pathogenesis », *Cancer science* 105, n° 5 (2014): 608-15.
- ¹⁷⁹ Kevin N. Heller et al., « Primary Follicular Lymphoma of the Testis: Excellent Outcome Following Surgical Resection without Adjuvant Chemotherapy », *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 26, n° 2 (février 2004): 104-7, <https://doi.org/10.1097/00043426-200402000-00007>.
- ¹⁸⁰ Matthew Koo et Robert S Ohgami, « Pediatric-type follicular lymphoma and pediatric nodal marginal zone lymphoma: recent clinical, morphologic, immunophenotypic, and genetic insights », *Advances in Anatomic Pathology* 24, n° 3 (2017): 128-35.
- ¹⁸¹ Michael G Ozawa et al., « A study of the mutational landscape of pediatric-type follicular lymphoma and pediatric nodal marginal zone lymphoma », *Modern Pathology* 29, n° 10 (2016): 1212-20.
- ¹⁸² Claudio Agostinelli et al., « Novel markers in pediatric-type follicular lymphoma », *Virchows Archiv* 475, n° 6 (2019): 771-79.
- ¹⁸³ Paola Vitiello et al., « Primary cutaneous B-cell lymphomas: an update », *Frontiers in Oncology* 10 (2020): 651.
- ¹⁸⁴ S. Böttcher et al., « Minimal Residual Disease Quantification Is an Independent Predictor of Progression-Free and Overall Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia: A Multivariate Analysis from the Randomized GCLLSG CLL8 Trial », *Journal of Clinical Oncology* 30, n° 9 (2012): 980-988, <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.36.9348>.
- ¹⁸⁵ Hallek, Michael, et al. "iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 131.25 (2018): 2745-2760.
- ¹⁸⁶ Martin Gauthier et al., « Maladie résiduelle minime dans la leucémie lymphoïde chronique : un enjeu restant d'actualité », *Bulletin du Cancer* 105, n° 11 (novembre 2018): 1042-1051, <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2018.07.008>.
- ¹⁸⁷ Othman Al-Sawaf et al., « Should Undetectable Minimal Residual Disease Be the Goal of Chronic Lymphocytic Leukemia Therapy? », *Hematology/Oncology Clinics* 35, n° 4 (1 août 2021): 775-791, <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2021.03.007>.
- ¹⁸⁸ Alexandre Bazinet et al., « A 10-Color Flow Cytometry Panel for Diagnosis and Minimal Residual Disease in Chronic Lymphocytic Leukemia », *Leukemia & Lymphoma* 62, n° 10 (24 août 2021): 2352-2359, <https://doi.org/10.1080/10428194.2021.1919658>.
- ¹⁸⁹ Bazinet, Alexandre, et al. "A 10-color flow cytometry panel for diagnosis and minimal residual disease in chronic lymphocytic leukemia." *Leukemia & Lymphoma* 62.10 (2021): 2352-2359.
- ¹⁹⁰ Jennifer M. Goshaw et al., « 14-Color Single Tube for Flow Cytometric Characterization of CD5+ B-LPDs and High Sensitivity Automated Minimal Residual Disease Quantitation of

CLL/SLL », *Cytometry Part B: Clinical Cytometry* 100, n° 4 (juillet 2021): 509-518, <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21953>.



¹⁹¹ Troussard, Xavier, Elsa Maitre, and Jérôme Paillassa. "Leucémie à tricholeucocytes: quelles sont les meilleures options thérapeutiques pour les patients en rechute ou réfractaires?" *Bulletin du Cancer* 108.7-8 (2021): 771-778.



Serment de Galien



Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.
 - D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.
 - D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.
 - De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
 - Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.
- 
- 

جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
الرياضة -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي-

- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيها لتعاليمهم.
- أن أزاوّل مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن أنتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفّع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلي أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

والله على ما أقول شهيد



المملكة المغربية
جامعة محمد الخامس بالرباط
كلية الطب والصيدلة
الرباط



أطروحة رقم: 37

سنة: 2022

مساهمة قياس التدفق الخلوي في تشخيص ومتابعة اضطرابات التكاثر اللمفاوي المزمنة ب

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم: 2022/ /

من طرفه

السيدة هاجر بوعوده

المزداة في 1997/11/03

لنيل شهادة

دكتور في الصيدلة

الكلمات الأساسية: قياس التدفق الخلوي، متلازمات التكاثر اللمفاوي ب، التنميط المناعي

أعضاء لجنة التحكيم:

رئيس

السيد: عبد الله دامي

مشرف

أستاذ في علم الكيمياء الحيوية

السيد: عبد القادر بالمكي

عضو

أستاذ في علم الدم

السيد: حفيظ الزهيد

عضو

أستاذ في علم الدم

السيد: هشام الغاز

عضو

أستاذ في علم الفيروسات

السيد: طارق دندان

أستاذ في الإنعاش الطبي