

ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
FES



**LES LYMPHOMES NON HODGKINIENS DE PHENOTYPE B
DE BAS GRADE GANGLIONNAIRES : EXPERIENCE DU SERVICE
D'ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES**

MEMOIRE PRESENTE PAR :

Docteur IKRAM BADIOUI
née le 26 Septembre 1981 à Fès

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE EN MEDECINE
OPTION : ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Sous la direction de :
Professeur ZNATI KAOUTAR

Juin 2013

Abréviations

<u>Ac</u>	Anticorps.
<u>AID</u>	Activation induced cytidine deaminase.
<u>CD</u>	Cluster of differentiation.
<u>CHOP</u>	Cyclophosphamide- Doxorubicine- Vincristine- Prédnisone.
<u>COP</u>	Cyclophosphamide- Vincristine- Prédnisone.
<u>CYM</u>	Cytarabine- Méthotrexate.
<u>EBV</u>	Epstein Barr Virus.
<u>EMA</u>	Antigène épithélial membranaire.
<u>ECOG</u>	Easter cooperative oncology group
<u>FISH</u>	fluorescence in situ hybridation
<u>FLIPI</u>	Follicular lymphoma International Prognostic Index
<u>HES</u>	Hématoxyline éosine safran.
<u>HTLV1</u>	Human T cell lymphoma virus
<u>HP</u>	Hélicobacter pylori.
<u>Ig</u>	Immunoglobulines.
<u>IPSID</u>	Immuno-proliférative small intestinal diseases.
<u>IHC</u>	Immunohistochimie
<u>IPI</u>	International Prognostic Index
<u>IV</u>	Intraveineux
<u>LAI</u>	Lymphome angioimmunoblastique
<u>LBDGC</u>	Lymphome B diffus à grandes cellules
<u>LF</u>	Lymphome folliculaire
<u>LLC</u>	Lymphome lymphocytaire.

<u>LLE</u>	Lésions lympho-épithéliales.
<u>LNH</u>	Lymphomes non Hodgkiniens
<u>LPTD</u>	Lymphomes primitifs du tube digestif.
<u>LT</u>	Leucémie à tricholeucocyte.
<u>LZM</u>	Lymphome de la zone marginale
<u>MALT</u>	Mucosa associated lymphoid tissue.
<u>NK</u>	Natural Killer
<u>OMS</u>	Organisation Mondiale de la Santé.
<u>ORL</u>	Otorhinolaryngologie
<u>PCR</u>	Polymerase Chain Reaction
<u>PS</u>	Performance Status
<u>R-CHOP</u>	Rituximab- Cyclophosphamide- Doxorubicine- Vincristine- Prédnisone.
<u>REAL</u>	Revised European American Lymphoma
<u>TCR</u>	Récepteur de la cellule T
<u>TDT</u>	Terminal désoxynucléotidyl transférase
<u>TFH</u>	T follicular helper
<u>VS</u>	Vitesse de sédimentation
<u>VIH</u>	Virus d'immunodéficience acquise.

PLAN

Introduction.....	4
Etude pratique.....	6
Etude théorique et discussion.....	24
Conclusion.....	92
Résumé.....	94
Bibliographie.....	97

INTRODUCTION

I.INTRODUCTION :

Les lymphomes non hodgkiniens (LNH) de phénotype B de bas grade sont des néoplasies dérivées des lymphocytes B. Ils correspondent à des lymphomes à petites cellules développés à partir des différents compartiments des follicules lymphoïdes. Ils comprennent les lymphomes folliculaires, les lymphomes à cellules du manteau, les lymphomes de la zone marginale, les lymphomes lymphocytiques et les lymphomes lymphoplasmocytaires [1]. En dehors des lymphomes du manteau, ce sont des lymphomes indolents, lentement évolutifs [2]. Ils augmentent régulièrement de fréquence. Une classification exacte est essentielle pour une prise en charge thérapeutique adéquate. Dans ce but, la classification actuelle identifie une liste d'entités définies par des caractéristiques cliniques, morphologiques, immunologiques, cytogénétiques et moléculaires, et autant que possible par une cellule d'origine précise [1]. Le diagnostic de certitude est anatomopathologique.

Cette étude rétrospective porte sur 28 cas de LNH de phénotype B de bas grade ganglionnaire, colligés au sein du service d'anatomie pathologique du centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès durant une période de 3 ans allant de 2008 à 2010.

Le but de ce travail est :

- D'établir un profil épidémiologique des lymphomes non hodgkiniens de phénotype B de bas grade ganglionnaires diagnostiqués au sein de notre service.
- Classer ces lymphomes selon la nouvelle classification de l'OMS 2008.
- Déterminer l'intérêt de l'immunohistochimie dans le diagnostic positif et différentiel de ces lymphomes.
- Discuter l'apport de la technique de cytogénétique et de biologie moléculaire dans leur diagnostic positif.

ETUDE PRATIQUE

I. MATERIELS ET METHODES

1. Matériel :

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive et analytique de 28 cas de lymphome non hodgkinien (LNH) ganglionnaire de phénotype B de bas grade, menée au service d'Anatomie et de cytologie pathologique du centre hospitalier universitaire (CHU) Hassan II de Fès durant une période de 3 ans s'étalant de Janvier 2008 au mois de Décembre 2010.

Nous avons exploité 17 dossiers cliniques pour les raisons suivantes :

- 9 patients ont été suivis à titre externe
- 2 dossiers cliniques n'ont pas été exploités pour des problèmes d'archivage au service de médecine interne.

2. Méthodes : La fiche d'exploitation

Nous avons établi une fiche d'exploitation qui est rempli selon les fiches d'envoi adressées avec les prélèvements, le registre informatique du service, complétée au besoin par les informations tirées du dossier clinique des patients qui ont été hospitalisés au service de médecine interne. Notons que, parmi les 28 cas de notre étude, nous n'avons pu exploiter que 17 dossiers médicaux pour les items cliniques, biologiques, thérapeutiques et évolutifs, ceci est dû aux problèmes suivants :

- Ø 8 prélèvements (29%) nous ont été adressés du privé.
- Ø 3 dossiers ont été perdus suite à un problème d'archivage.

Chaque fiche d'exploitation comporte les renseignements suivants :

- L'identité du malade.
- Le numéro de référence du prélèvement.
- L'index personnel et le numéro du dossier.
- L'âge et le sexe.
- Le siège du prélèvement.

- Les résultats anatomopathologiques
- La présentation clinique.
- Les examens paracliniques.
- Le bilan d'extension.
- Le traitement.
- L'évolution.

3. Données cliniques :

Les renseignements cliniques retenus des dossiers médicaux sont :

- Le motif de consultation : nous avons tenu compte du motif mentionné au niveau du dossier clinique du malade.
- La fièvre et l'amaigrissement : nous avons considéré la fièvre quand elle dépasse 38°C pendant au moins une semaine, en l'absence d'infection intercurrente. Pour l'amaigrissement, il est défini par la présence d'une perte de poids estimée à 10 % ou plus du poids du corps au bout de 6 mois.
- Le site ganglionnaire : les adénopathies ont été classées selon leur distribution: cervicale, sus-claviculaire, axillaire, inguinale et profonde (médiastinales et abdominales).

4. Données biologiques :

Les données biologiques étudiées sont :

- La vitesse de sédimentation: nous avons utilisé comme valeur de référence celle identifiée dans les différents scores pronostiques qui est de 30 mm en première heure.
- L'anémie : nous avons pris en considération une valeur d'Hb < 12 g/dl pour définir une anémie chez nos patients. En même temps, nous sommes intéressés à la valeur d'Hb < 10,5 g/dl (valeur requise comme facteur de risque).
- L'hyperleucocytose : nous avons retenu une valeur > 15000 éléments/mm³, valeur retenue comme facteur de mauvais pronostic dans le Score Pronostique International pour les formes disséminées de la maladie.

- La lymphopénie : pour la même raison que pour l'hyperleucocytose, nous sommes intéressés à une valeur < 600 éléments/mm³ des lymphocytes.
- Le taux d'albumine sérique : nous sommes intéressés à une valeur < 40 g/l.

II. Résultats

1. Les données épidémiologiques

1.1. La fréquence des LNH ganglionnaires de phénotype B de bas grade durant la période 2008 – 2010

Durant la période d'étude (janvier 2008 – Décembre 2010), les LNH ganglionnaires de phénotype B de bas grade ont représenté 0.85% (n=28) de l'ensemble des cas de cancers diagnostiqués. Ces derniers sont estimés à 3285 cas, d'après le registre des cancers établi au service.

Ces lymphomes ont représenté 11.20% de l'ensemble des lymphomes diagnostiqués (toutes localisations confondues) durant la même période et qui sont estimés à 251 cas, 13.6% des cancers ganglionnaires (estimés à 206 cas), 19.9% des lymphomes ganglionnaires (estimés à 141) et 43% des LNH de phénotype B ganglionnaires (estimés à 65 cas).

Les lymphomes de Hodgkin ont représenté 41.8% de l'ensemble des lymphomes ganglionnaires.

Concernant les cas de LNH ganglionnaires de bas grade de phénotype B, nous avons noté une légère augmentation de la fréquence allant de 25% (n=7) en 2008 à 35.7% (n=10) en 2010 (Figure 4).

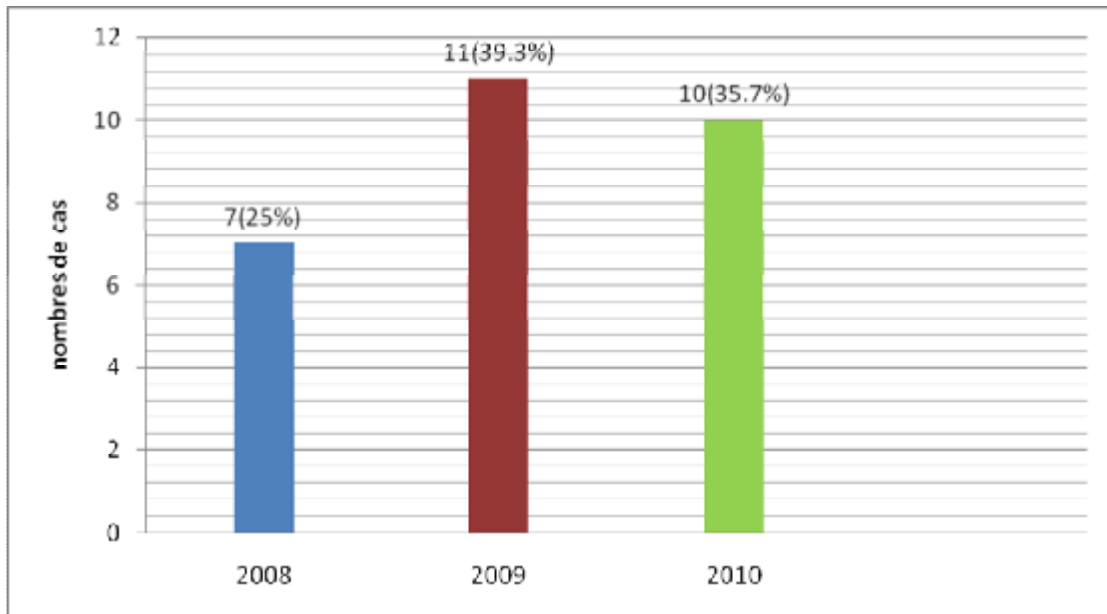


Figure 4 : Le nombre de cas de LNH ganglionnaires de phénotype B de bas grade diagnostiqués durant les années 2008-2010

1.2. La répartition selon l'âge

L'âge de nos patients allait de 40 à 80 ans avec un âge moyen de 61 ans. Dans notre série, nous avons identifié 3 tranches d'âges dont la fréquence de survenue des LNH de phénotype B de bas grade ganglionnaires est variable. La survenue était plus élevée chez les sujets âgés de 56 à 70 ans avec une fréquence de 50% (Figure 5).

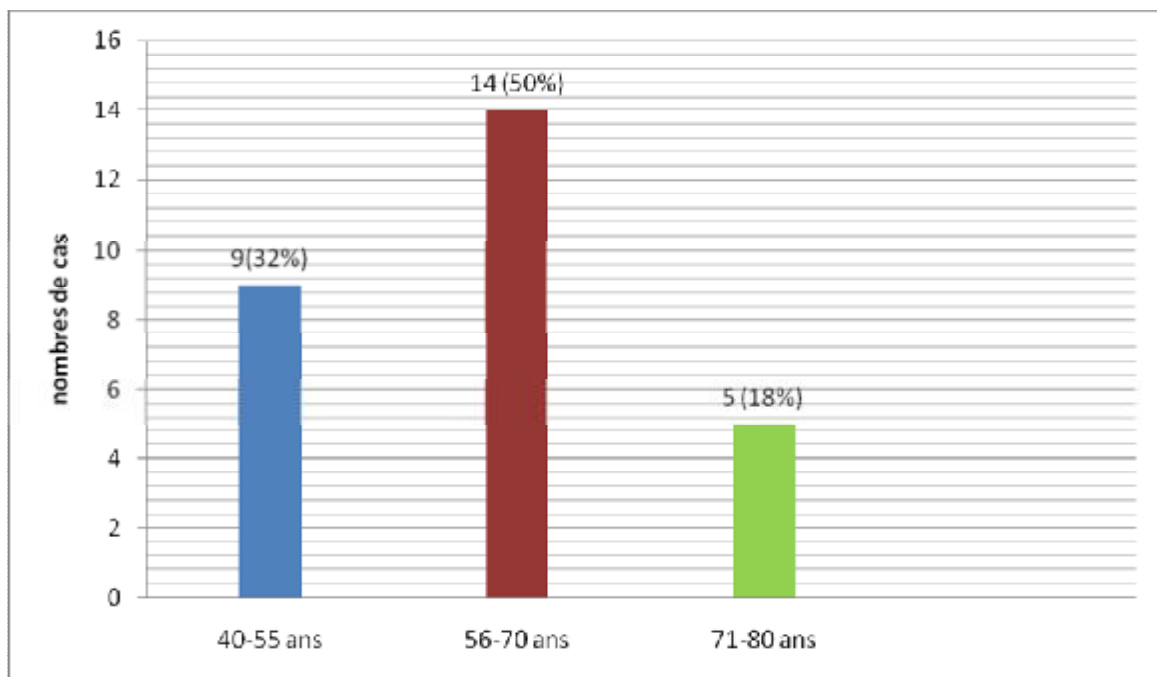


Figure 5 : La répartition des LNH de phénotype B de bas grade ganglionnaires selon la tranche d'âge

1.3. La répartition selon le sexe

La population analysée a montré une nette prédominance masculine.

En effet, 79% de nos patients étaient de sexe masculin alors que 21 % uniquement étaient de sexe féminin soit un sex-ratio de 3.76 (Figure 6).

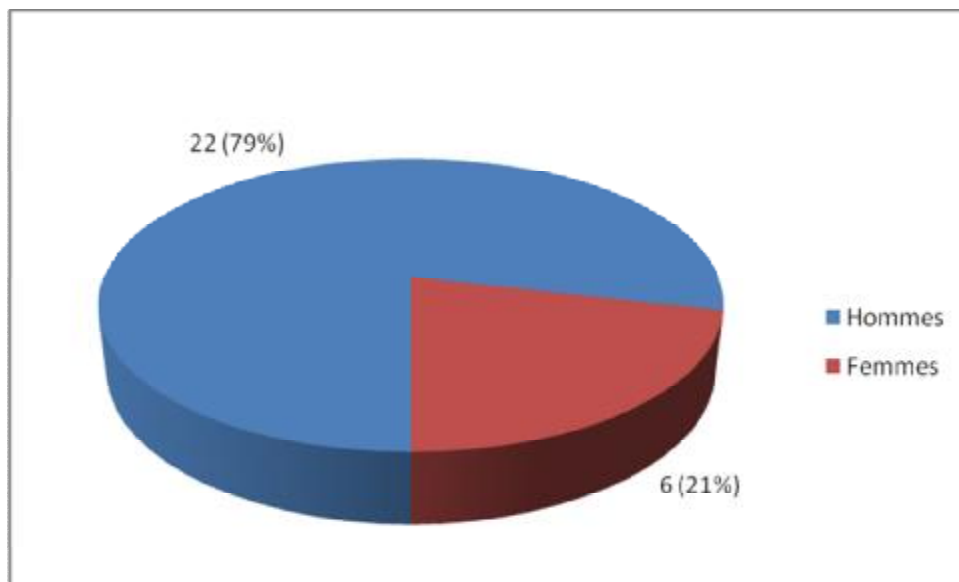


Figure 6 : La répartition des LNH de phénotype B de bas grade ganglionnaires selon le sexe

2. Etude clinique

2.1. Les signes fonctionnels :

L'apparition de polyadénopathies était le principal signe fonctionnel motivant nos patients à consulter.

La localisation cervicale des adénopathies était observée chez tous nos patients avec 4 patients seulement qui avaient une localisation cervicale isolée. L'association à des adénopathies inguinales était observée chez 13 patients, (soit 76.5%). Les adénopathies axillaires chez 5 patients (soit 29.4%) et sus-claviculaires chez un patient (soit 5.9%).

En ce qui concerne les adénopathies profondes, elles étaient observées chez 9 de nos patients (53%) dont 6 avaient une association d'adénopathies médiastinales et péritonéales et 3 présentaient uniquement des adénopathies médiastinales.

La splénomégalie était présente au moment du diagnostic chez seulement 7 patients (soit 41.2%) (Figure 7).

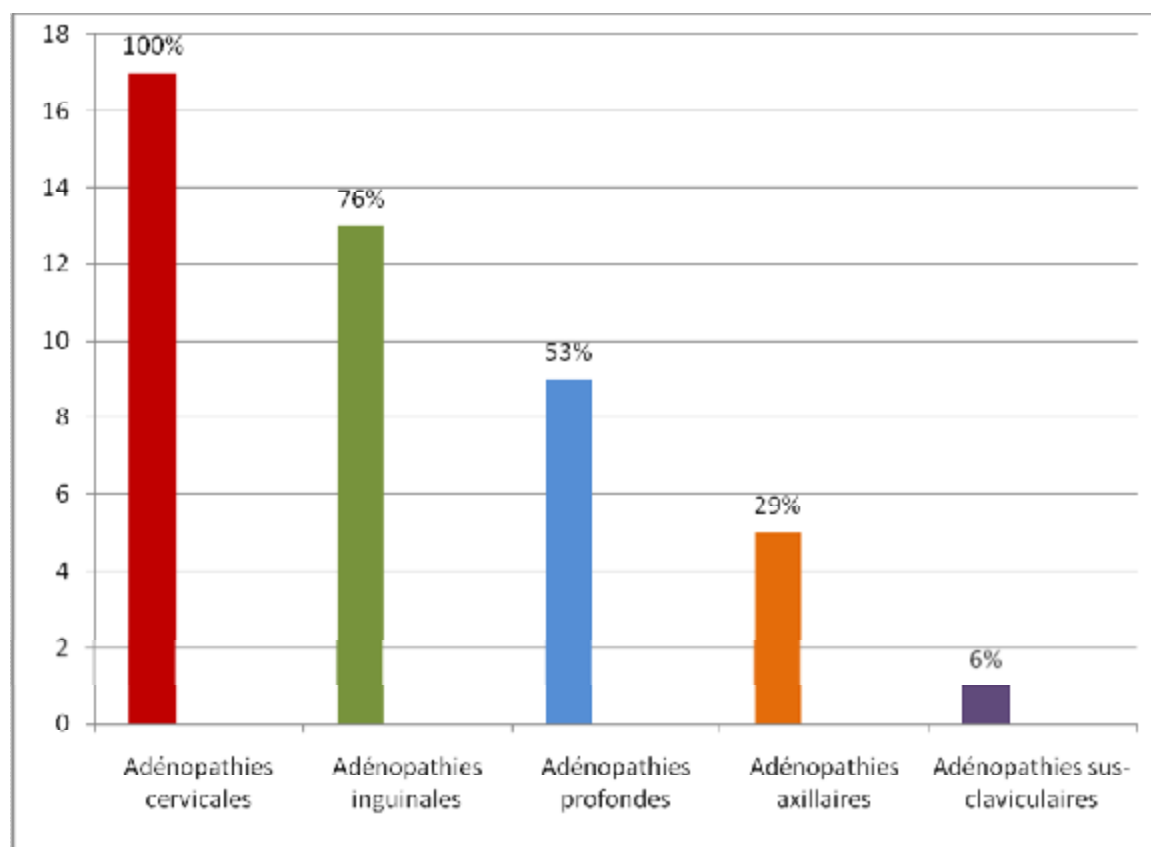


Figure 7 : La répartition des adénopathies selon la localisation

Les signes ORL étaient rapportés chez un seul patient (soit 5.8%), à type de tuméfaction parotidienne isolée.

Les signes neurologiques étaient également présents chez un seul patient sous forme de marche à petits pas avec perte du balancement du membre supérieur droit associée à une roue dentée.

Des œdèmes des membres inférieurs étaient constatés chez un seul patient.

2.2. Les signes généraux

Au moment du diagnostic, 11 patients (soit 64.7%) présentaient un amaigrissement. L'asthénie était retrouvée chez 10 de nos patients (soit 58.8%) alors que la fièvre était notée chez 4 patients seulement (soit 23.5%). (Figure 8).

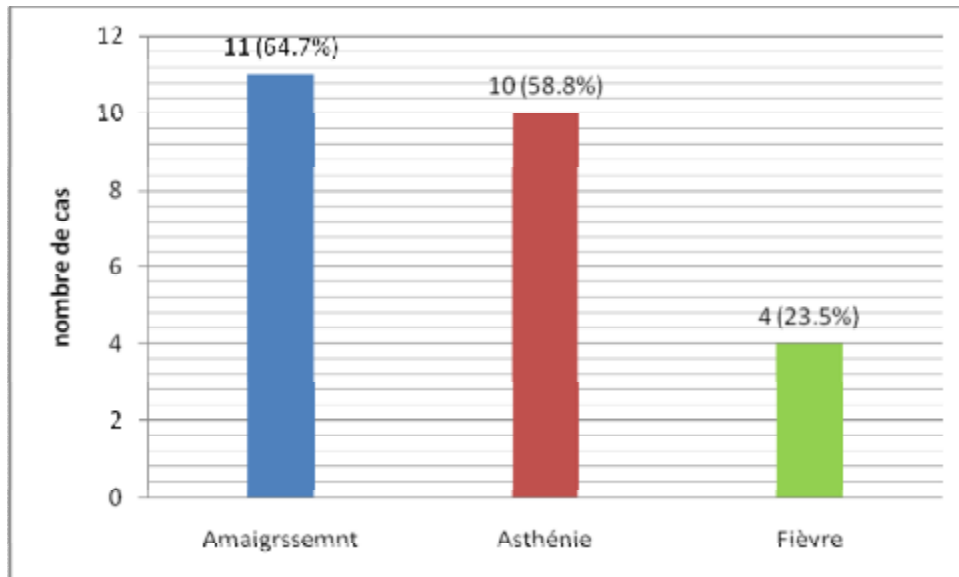


Figure 8 : La répartition des signes généraux

2.3. Les signes physiques

Les signes physiques révélés par l'examen clinique sont :

- Les adénopathies superficielles sont notées chez tous nos patients. Elles étaient toutes mobiles par rapport aux deux plans. Elles étaient soit de localisation cervicale isolée (4 patients), soit multiples (13 patients) avec association d'adénopathies cervicales, inguinales, axillaires et sus-claviculaires. Les adénopathies étaient bilatérales chez 13 patients, soit 76.5% des cas.
- La splénomégalie était présente chez 12 patients (soit 70.6%).
- L'hépatomégalie était objectivée chez un seul patient.

3. L'étude histologique

3.1. La répartition des lymphomes selon le sous-type

Dans notre série, Le lymphome lymphocytaire (LLC) représentait le diagnostic le plus fréquent. Il était porté chez 15 de nos patients, soit 53.6%. Il était suivi par le lymphome centro-folliculaire et Le lymphome de la zone du manteau, observés chacun chez 5 patients, soit 17.9% des cas. Le lymphome de la zone marginale n'était constaté que chez un seul patient, soit 3.6%.

Le lymphome lymphoplasmocytaire n'était présent chez aucun patient.

Il est à noter que 2 cas, soit 7.14% étaient diagnostiqués comme des LNH de phénotype B à petites cellules (de bas grade) sans précision du sous-type histologique par manque d'anticorps. Seul l'anticorps anti-CD20 était réalisé chez ces patients et était positif dans les 2 cas (figure 9).

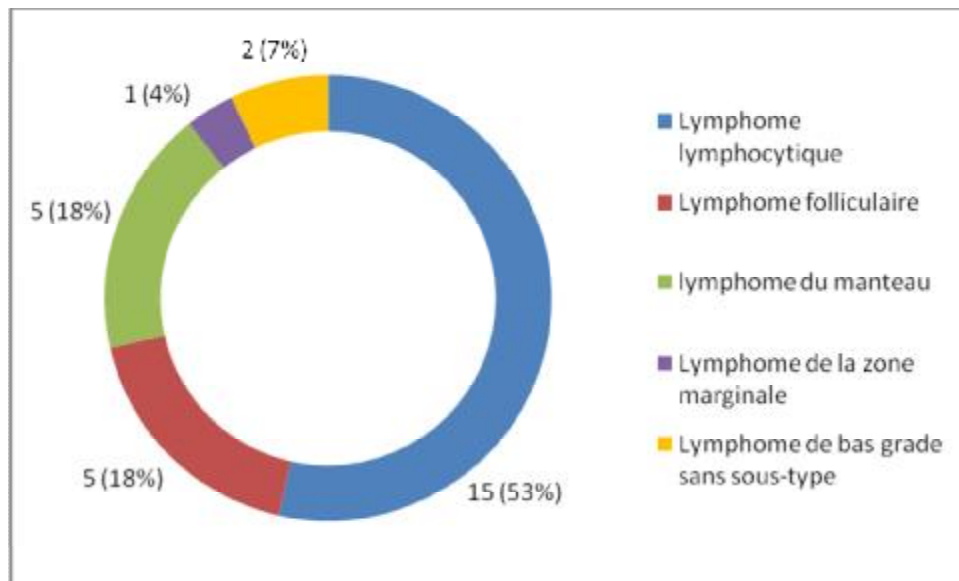


Figure 9 : La répartition des lymphomes selon les sous-types

3.2. Etude analytique

a. Le lymphome lymphocytaire (LLC):

Sur le plan histologique, ces proliférations étaient d'architecture diffuse, faites de petits lymphocytes B.

L'immunohistochimie a été réalisée dans tous les cas. (Tableau 1). Les différents marqueurs lymphoïdes utilisés pour la confirmation diagnostique étaient : Les anticorps anti-CD20, anti-CD23, anti-CD5 et anti-BCL2, dont l'expression a été enregistrée avec les valeurs suivantes :

- Le CD 20 était positif dans 12 cas, son marquage était souvent fort, plus vif au sein des centres de proliférations. Il n'a pas été réalisé dans les 3 autres cas (Anticorps non disponible).
- Le CD23 a été exprimé dans tous les cas (15)
- Le CD5 a été positif dans 13 cas et n'a pas été réalisé dans les 2 autres cas (car il n'était pas disponible au laboratoire).
- Le BCL2 a été réalisé chez 2 patients seulement (car il n'était pas disponible au laboratoire pour les autres patients). Il s'est révélé positif dans les 2 cas.

Tableau 1 : Les marqueurs positifs dans les cas du lymphome lymphocytaire

L'anticorps	Le nombre des cas positifs
CD20	12
CD23	15
CD5	13
BCL2	2

b. Le lymphome à cellules du manteau:

5 cas de lymphomes de type manteau ont été classés dans notre série. L'âge de survenue variait entre 54 ans et 66 ans. Le sexe masculin était prédominant avec un sex-ratio de 4 (4 hommes et une femme).

Histologiquement, l'architecture de ces lymphomes était diffuse ou nodulaire. Les cellules B étaient de petite taille, monomorphes et irrégulières.

L'immunohistochimie a été réalisée dans les 5 cas (Tableau 2). Le panel immunohistochimique utilisé dans notre série a comporté le CD20, le CD5, la cycline D1, le BCL2, le BCL6 et le CD10. Les résultats trouvés sont :

- Le CD20 et le CD5 étaient positifs dans tous les cas.
- La cycline D1 n'était positive que dans 4 cas. Elle n'a pas été réalisée chez le 5ème patient car n'a pas été disponible au service.
- Le BCL2 était utilisé dans 2 cas où il était positif.
- Le CD10 était réalisé dans 2 cas seulement et était négatif.

Tableau 2: Les marqueurs positifs dans les cas du lymphome de la zone du manteau

L'anticorps	Le nombre des cas
CD20	5
CD5	5
CYCLINE D1	4
CD10	0
BCL2	2

c. Le lymphome folliculaire :

5 cas de lymphomes folliculaires ont été retrouvés dans notre série. Ils sont diagnostiqués essentiellement entre l'âge de 43 et 75 ans avec un sex-ratio de 1.5 (3 hommes et 2 femmes).

Sur le plan histologique, ces proliférations étaient d'architecture folliculaire ou mixte folliculaire et diffuse, faites de cellules clivées centrocytiques et de cellules de grande taille centroblastiques.

L'immunohistochimie a été réalisée dans tous les cas. Les résultats obtenus montrent (tableau 3) :

- Une expression du CD20 dans 4 cas (L'anticorps n'a pas été disponible au laboratoire pour le 5ème patient).
- Le BCL2 réalisé chez tous les patients était positif dans tous les cas
- Le CD10 était réalisé chez 3 patients seulement (car n'était pas disponible dans le service) et était positif dans 2 cas seulement.

- Le BCL6 n'était réalisé que dans 3 cas par manque d'anticorps au service. Il était exprimé par les cellules tumorales des 3 patients.
- L'anticorps anti- CD 5 réalisé chez 3 patients était négatif.
- L'anticorps anti-CD23, réalisé chez tous les patients, était positif dans 4 cas seulement.

Tableau 3: Les marqueurs positifs dans les cas du lymphome folliculaire

L'anticorps	Le nombre de cas positifs
CD20	4
BCL2	5
CD10	2
BCL6	3
CD23	4

c. Le lymphome de la zone marginale:

Dans les 28 cas étudiés dans notre série, le lymphome de la zone marginale a été noté dans un seul cas : un homme âgé de 62 ans.

Histologiquement, ce lymphome s'est caractérisé par une topographie de type marginal avec des cellules monocytoïdes. Le profil immunohistochimique trouvé était : CD20+, CD3 -, CD5-, CD10-, CD23-, cycline D1-.

d. Le lymphome lymphoplasmocytaire:

Aucun cas de lymphome lymphoplasmocytaire n'a été diagnostiqué chez nos patients.

4. Le bilan d'extension:

Une fois le diagnostic est retenu, les malades ont bénéficié d'un bilan d'extension, puis ils sont classés en stades cliniques selon la classification d'Ann-Arbor, avec précision du stade évolutif clinique et biologique.

4.1. Les examens biologiques :

- La numération formule sanguine (NFS): La NFS a été réalisée d'une façon systématique chez tous les patients. Les principales perturbations retrouvées sont représentées dans la figure 10 :

- ü L'anémie est rapportée chez 12 patients (70.6%). Elle a été de type hypochrome microcytaire dans tous les cas.
- ü La thrombopénie avec un taux de plaquettes $< 150\,000$ a été rapportée dans 41.2% des cas (7 patients).
- ü La neutropénie $< 600/\text{mm}^3$ a été observée chez un seul patient (5.9% des cas).
- ü L'hyperleucocytose $> 15\,000$ éléments/ mm^3 a été mentionnée dans 23.5% des cas (4 patients) avec une prédominance lymphocytaire.

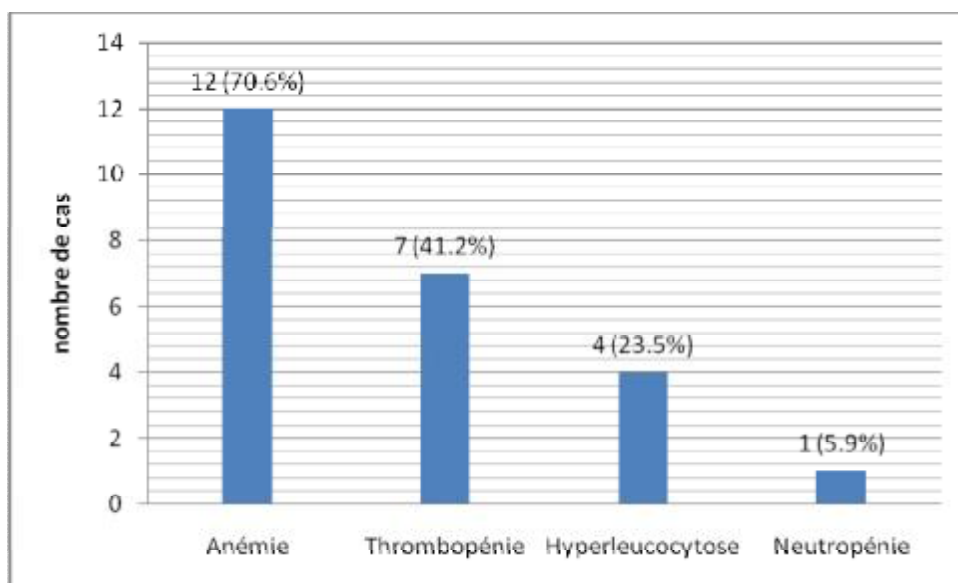


Figure 10 : Les résultats de la numération formule sanguine.

- Le LDH a été effectué chez 14 patients. Il était augmenté chez 13 patients (76.5%) et normal dans un seul cas.
- La CRP a été réalisée chez 7 patients seulement. Elle était élevée dans 29.5% des cas (5 patients) et normale chez 2 patients (11.8%).

- La Vitesse de sédimentation a été réalisée chez 4 patients seulement où elle était élevée (23.5% des cas).
- La Beta2 microglobulinémie a été réalisée chez 8 patients (47%). Elle était élevée dans tous les cas.
- L'EPP (électrophorèse des protides) a été réalisée chez 2 patients seulement. Elle a montré une hypoalbuminémie avec hyperalpha1 beta 1 et gammaglobulinémie chez un patient et une hypergammaglobulinémie polyclonale chez l'autre patient.
- La fonction rénale a été effectuée de façon systématique dans tous les cas. Elle était normale chez tous nos patients.
- Les sérologies : hépatite B, hépatite C, VIH, TPHA/VDRL étaient réalisées chez 11 malades (64.7%). Elles étaient négatives dans tous les cas.
- Le bilan physiologique a été effectué chez un seul patient. Il était négatif.
- La biopsie ostéomédullaire a été effectuée chez 7 patients. Elle était positive (infiltration de la moelle osseuse) dans 3 cas (17.6%) et négative chez les 4 autres patients (23.5%).

4.2. Le bilan radiologique et les investigations exploratrices :

Le bilan radiologique a été réalisé dans 88,2% des cas (15 patients), alors que 2 patients n'ont pas eu leur bilan radiologique.

a. La radiographie standard du thorax :

Cette radiographie a été réalisée dans le but de chercher la présence d'un élargissement médiastinal, d'anomalies du parenchyme pulmonaire ou d'un épanchement pleural, les résultats sont illustrés dans la figure 11.

- La radiographie thoracique était normale chez 5 patients (29.4%).
- Les adénopathies médiastinales ont été notées dans 58.8% des cas (10 patients)
- Dans 23.5% des cas (4 patients) nous avons trouvé des micronodules pulmonaires.
- Un syndrome interstitiel a été observé dans un seul cas (5.9%).

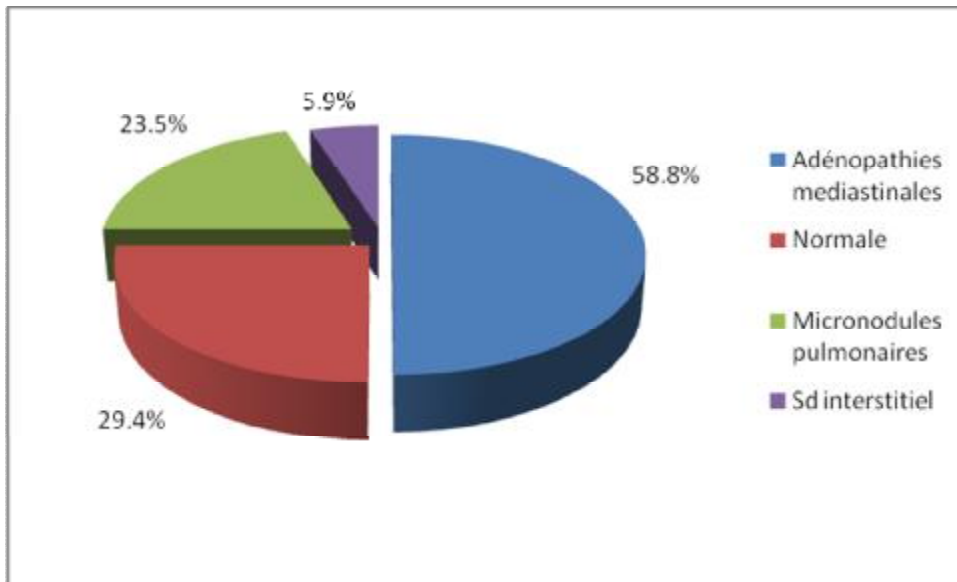


Figure 11 : Les résultats de la radiographie standard du thorax.

b. Le scanner cervico-thoraco-abdominal:

Dans notre travail, le scanner cervico-thoraco-abdominal a été réalisé dans 88.2% des cas (15 patients). Les résultats sont représentés comme suit (Figure 12):

Ø A l'étage cervical, nous avons noté la présence d'adénopathies cervicales bilatérales de la chaîne spinale chez 5 patients (soit 29.4%).

Ø A l'étage thoracique, les lésions trouvées étaient:

- Des adénopathies médiastinales dans 58,8% des cas (10 patients)
- Des micronodules pulmonaires chez 4 patients (soit 23.5%).
- Des adénopathies axillaires chez 10 patients (58.8%).
- Des adénopathies sus-claviculaires chez 2 patients (soit 11.8%)
- Une métastase osseuse au niveau du rachis thoracique chez un patient (5.9%).

Ø A l'étage abdominal, les lésions décelées étaient:

- Des adénopathies profondes dans 64.7% des cas (11 patients).
- Un épaississement gastrique chez un seul patient (5.9%).
- Une splénomégalie dans 64.7 % des cas (11 patients).
- Une métastase hépatique chez un seul patient (5.9%).

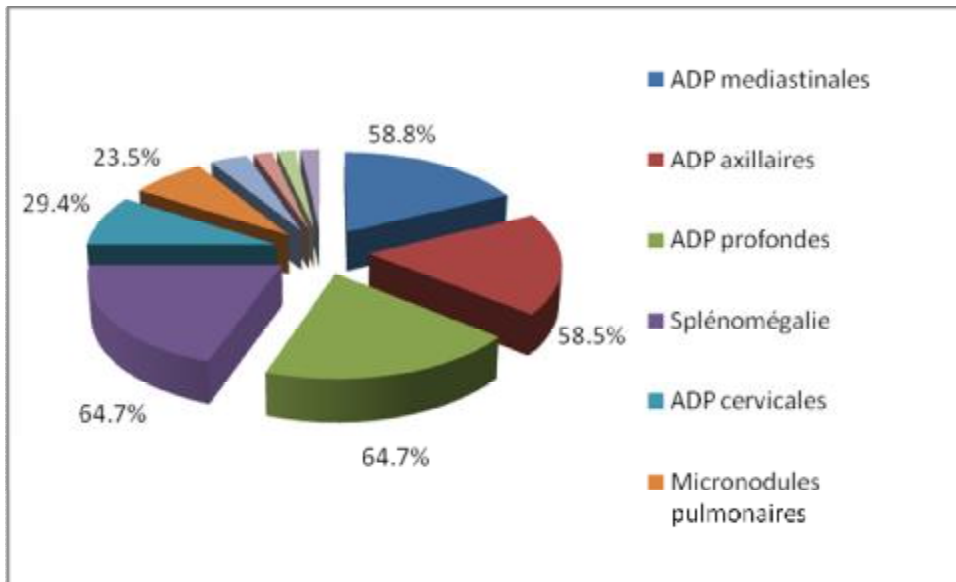


Figure 12 : Les résultats du Scanner cervico-thoraco-abdominal.

c. L'échographie abdominale

Elle a été réalisée chez 2 patients montrant une splénomégalie chez un malade et une masse hépatique chez l'autre.

d. L'écho-cœur

Elle a été réalisée de façon systématique chez tous les patients dans le cadre du bilan préthérapeutique. Elle était normale avec une fraction d'éjection $>50\%$ dans tous les cas.

e. La fibroscopie œsogastroduodénale

Elle a été réalisée chez un seul patient et a montrée la présence de lésions de gastrite inflammatoire et congestive.

5. La classification selon l'extension :

La détermination du stade clinique selon la classification d'ANN-ARBOR n'a été mentionnée que dans 12 dossiers cliniques. Les résultats sont comme suit :

- 11 patients avaient un stade IV d'ANN-ARBOR
- Un patient seulement avait un stade II.

6. Le traitement:

6.1. La chimiothérapie :

Dans notre série, le traitement était basé essentiellement sur la chimiothérapie, les molécules et les protocoles utilisés sont répartis comme suit (tableau 4):

Tableau 4 : Les protocoles de la chimiothérapie

Traitement reçu	CHOP	R-	COP	ESHAP	R-ESHAP
4 cures	1			1	1
5 cures			1		
6 cures	1	3			
7 cures		1		1	
8 cures	1	3	3		
12 cures			1		
Total patients	3	7	5	1	1
pourcentage	18.58%	41.2%	31.8	6.7%	6.7%

6.2. La Radiothérapie

Elle a été réalisée chez un seul patient de notre série. Le protocole n'a pas été précisé dans le dossier médical.

6.3. L'antibiothérapie :

Tous les malades ont bénéficié d'une antibiothérapie pour des infections bronchiques ou nosocomiales au cours de leur séjour hospitalier.

7. L'évolution :

Le suivi des patients a nécessité une surveillance clinique, biologique, et radiologique.

L'évolution était favorable chez 4 patients (soit 23.9%) avec 2 patients qui étaient en rémission partielle et 2 patients en rémission complète.

L'évolution était défavorable chez 9 patients (52.9%) puisque 29.4% de cas de rechute a été noté (soit 5 patients), 11.8% de cas de progression (2 patients), et 2 patients étaient décédés (11.8%).

Il est à noter que l'évolution n'a pas été précisée dans le dossier médical de 4 patients de notre série, soit 23.5% (Figure 13).

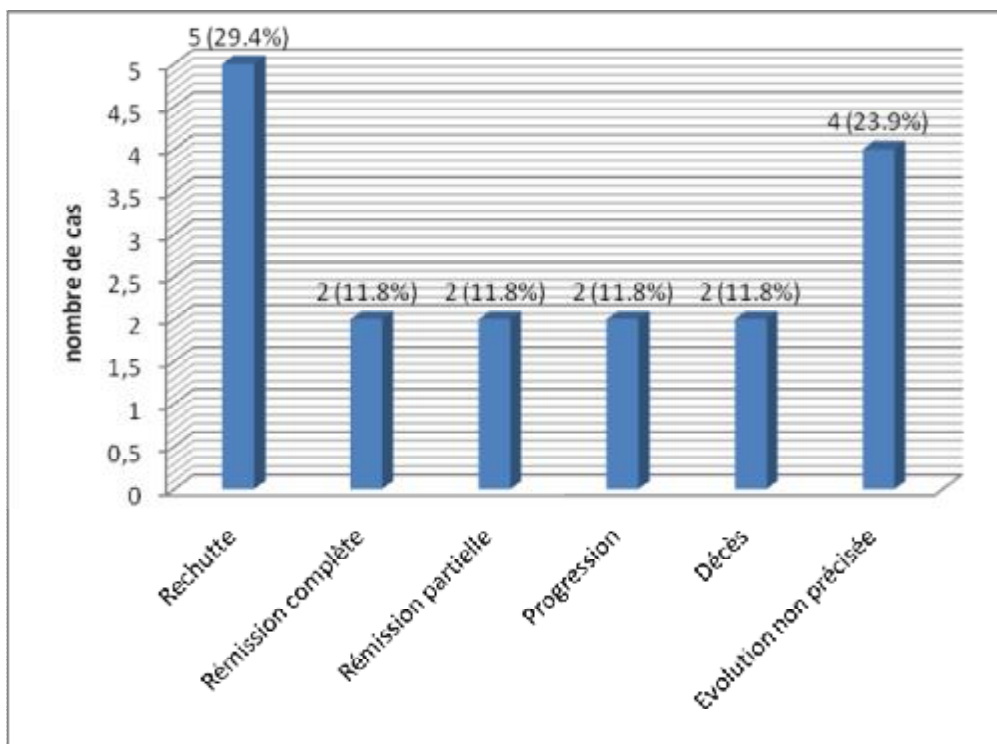


Figure 13 : L'évolution des malades traités.

ETUDE THEORIQUE ET DISCUSSION

I.DEFINITION

Les lymphomes font partie des syndromes lymphoprolifératifs. Il s'agit de tumeurs du système lymphoïde. Ce dernier est constitué par les cellules (lymphocytes), les ganglions, la rate, les amygdales, et il est présent dans de nombreux autres organes en particulier l'intestin [1].

Les lymphomes non hodgkiniens (LNH) de phénotype B correspondent à des proliférations malignes monoclonales de cellules de la lignée lymphocytaire B. Ainsi beaucoup de LNH sont interprétés comme la prolifération d'une ou de plusieurs variétés de cellules lymphoïdes apparaissant au cours des réponses immunes, tout se passant comme s'il y a un blocage de l'évolution normale des réactions permettant l'accumulation de certains types de cellules [2].

La grande variété des réponses immunitaires cellulaires et humorales explique l'existence de plusieurs types de lymphomes B.

Les néoplasies lymphoïdes peuvent se présenter sous forme de tumeurs solides et/ou de leucémies aiguës ou chroniques.

L'essor des techniques immunohistochimiques, le développement des anticorps monoclonaux, de la cytogénétique et de la biologie moléculaire ont abouti à de profonds remaniements dans la conception histogénétique et la classification de ces tumeurs. La classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) est largement fondée sur l'analyse phénotypique et moléculaire des lymphomes.

II. RAPPEL HISTOLOGIQUE ET FONCTIONNEL:

1. L'organisation du tissu lymphoïde :

Le tissu lymphoïde représente le lieu de différenciation et de maturation des différentes lignées lymphocytaires. Ce tissu se répartit soit en organes, soit sous forme d'infiltrats lymphoïdes diffus [3, 4, 5].

Ø Les organes lymphoïdes : deux variétés sont individualisées :

o Les organes lymphoïdes primaires : le thymus et la moelle osseuse

o Les organes lymphoïdes périphériques: La rate, les ganglions lymphatiques et les formations lymphoïdes associées aux muqueuses (les amygdales, les plaques de Peyer et le tissu lymphoïde diffus).

Ø Les infiltrats lymphoïdes diffus : ils existent dans tout le tissu conjonctif (le derme et le chorion des muqueuses) sous forme d'un manchon péri vasculaire au niveau de l'adventice des vaisseaux.

2. Rappel de l'anatomie ganglionnaire

Les ganglions sont des formations nodulaires dispersées le long des voies lymphatiques. Ils sont groupés dans plusieurs territoires superficiels (cervicaux, axillaires, inguinaux...) et profonds (médiastinaux, mésentériques...). Ce sont des formations nodulaires réniformes, entourées d'une capsule fibreuse et mesurent de façon physiologique moins d'un centimètre [6] (Fig. 1).

Les ganglions sont alimentés par une double vascularisation, lymphatique et sanguine. Des vaisseaux lymphatiques afférents abordent les ganglions par leur face convexe et se déversent dans les sinus périphériques puis médullaires collectés au sein d'un lymphatique efférent. Ils permettent la pénétration des antigènes dans les ganglions [7]. La circulation sanguine consiste en une artère qui borde le ganglion par le hile puis se divise en artérioles et capillaires qui irriguent la région périphérique des ganglions. Les capillaires sont collectés dans des veinules post-capillaires qui rejoignent une veine efférente qui quitte le ganglion par le hile [8].

3. Rappel histologique et fonctionnel du ganglion

La coupe d'un ganglion montre deux secteurs distincts, l'un nodulaire dit follicule et l'autre central constitué par le cordon médullaire [6].

La coupe histologique (Fig. 2) montre la présence:

- Ø D'une capsule externe qui repose sur un espace sous-capsulaire dans lequel vont cheminer les lymphocytes venant des tissus.
- Ø D'une région médullaire riche en petits sinus, où aboutit l'artériole ganglionnaire et d'où partent la veinule splénique et la circulation lymphatique efférente.
- Ø D'une région périphérique constituée de follicules séparés par la zone inter-folliculaire.

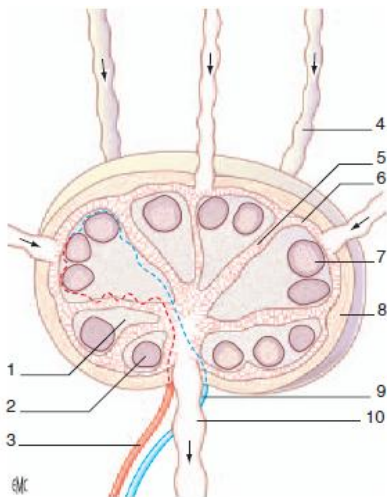


Fig.1 : schéma simplifié de la structure paracorticale.

- 1 : zone T paracorticale,
- 2 : follicule primaire,
- 3 : artère afférente,
- 4 : lymphatique afférent,
- 5 : sinus interfolliculaire,
- 6 : sinus sous capsulaire,
- 7 : follicule secondaire,
- 8 : capsule,
- 9 : veine efférente,

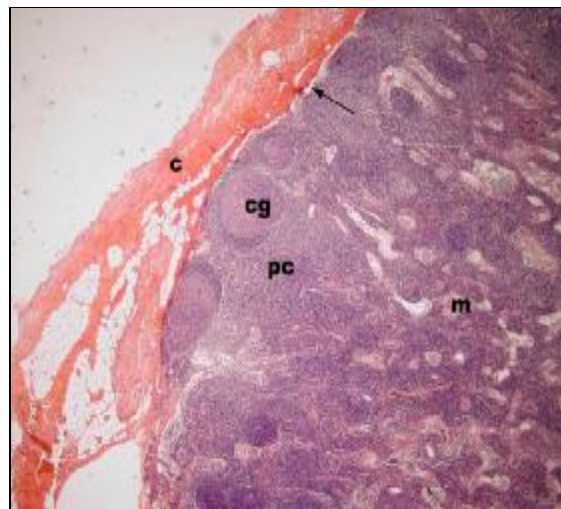


Fig.2 : coupe histologique montrant l'histologie normale du ganglion.

C : Capsule, → : Sinus marginal, cg : Centre germinatif, m : Médullaire, pc : Para cortex.

10 : lymphatique efférent.

Sur le plan fonctionnel, on distingue 3 zones différentes [9]:

- La zone B :

Localisée à la périphérie du ganglion et constituée de lymphocytes B organisés en follicules et liés à un réseau de cellules dendritiques folliculaires (CDF) dits follicules primaires. Après stimulation antigénique, les follicules primaires se transforment en follicules secondaires qui comprennent deux zones distinctes :

-La zone du manteau qui se situe à la périphérie du follicule. Elle est constituée de petits lymphocytes « naïfs » et d'un réseau lâche de CDF.

-Le centre germinatif qui est caractérisé par la présence d'un réseau dense et complexe de CDF associé à une population lymphoïde B polymorphe (centroblastes et centrocytes), des lymphocytes T et quelques macrophages.

Une zone dite marginale entourant la zone du manteau, est non visible à l'état normal dans les ganglions.

- La zone T :

Correspond à la zone paracorticale qui est dépourvue de follicule et correspond à la région thymo-dépendante où prédominent les lymphocytes T associées à des cellules interdigitées (cellules présentatrices d'antigènes (CPA)) des zones T.

- La zone médullaire :

C'est une zone riche en plasmocytes et en macrophages, formée de cordons séparés par les sinus lymphatiques médullaires.

4. La différenciation des cellules lymphoïdes

4.1. La différenciation des cellules B normales [10, 11]

Les cellules B proviennent de la moelle osseuse d'où elles dérivent de progéniteurs des cellules B (Fig. 3):

Les cellules pro-B évoluent sous l'action de transcriptase PAX5 en cellules pré-B avec l'apparition des premiers marqueurs B : CD19 et CD79a/mb-1, puis l'expression de CD22 et CD20 et l'antigène CALLA (CD10).

L'apparition de chaînes μ cytoplasmiques, sans chaîne légère associée, marque la dernière étape de la différenciation des cellules pré-B dans la moelle hématopoïétique. Les cellules pro-B et pré-B possèdent une enzyme impliquée lors des réarrangements des gènes : la terminal désoxynucléotidyl transférase (TDT).

Pour devenir matures les cellules vont assembler un pré-BCR (récepteur de la cellule B pour l'antigène) puis un BCR.

Chez l'homme une sous population de lymphocytes B « naïfs » exprime des antigènes normalement associés aux lymphocytes T : CD5.

La différenciation vers la lignée plasmocytaire est marquée par l'apparition d'Ig cytoplasmiques, l'acquisition de nouveaux antigènes (CD38) et la perte de la plupart des antigènes B (CD19, CD20, CD22).

4.2. Les modifications morphologiques des lymphocytes B secondaires à une stimulation antigénique

Après stimulation antigénique, les petits lymphocytes B des follicules subissent une série de transformation morphologique les faisant passer par le stade de cellules à noyaux non encochés (centroblastes) et de cellules à noyaux encochés (centrocytes). Les cellules naïves subissent une commutation de classes des gènes des Ig ainsi qu'une hypermutation somatique liée à l'action d'une enzyme d'activation « induced cytidine deaminase » (AID). Les toutes premières étapes de la transformation des lymphocytes « vierges » sont mal connues [11,12].

L'une de ces étapes serait l'apparition d'une cellule blastique à noyau rond : le centroblaste, présentant des nucléoles au contact de la membrane nucléaire. Les centroblastes se différencient à leur tour en cellules à noyaux encochés : les centrocytes, à partir desquelles se formerait le pool des cellules B mémoires. Par la suite l'immunoblaste donne naissance aux plasmocytes qui sécrètent les immunoglobulines.

juxtaposés par excision de l'acide désoxyribonucléique (ADN) intermédiaire. La zone jonctionnelle ainsi formée [V (D) J] code la partie variable des récepteurs [11].

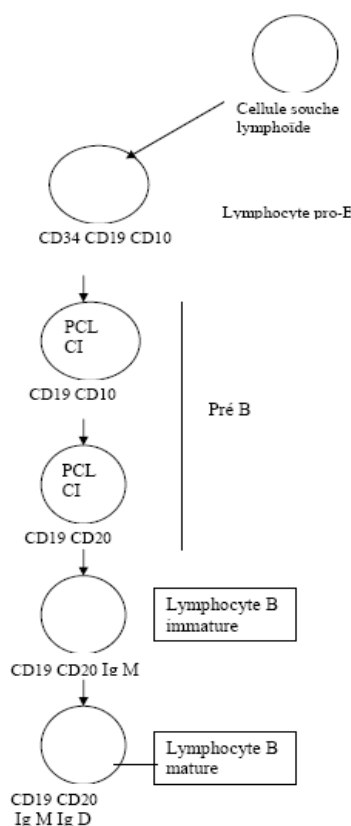


Fig.4 : Différenciation des cellules lymphoïdes avec l'expression des différents clusters de différenciation. (PCL : pseudo-chaîne légère, CI : chaîne d'immunoglobulines intracytoplasmiques, RT : récepteur T) [11].

L'hypervariabilité de la zone jonctionnelle est générée d'une part par les nombreuses possibilités de recombinaison entre les multiples segments V, D et J d'un locus donné, et d'autre part, par des additions de nucléotides entre les segments réarrangés lors de leur recombinaison VJ ou VDJ par la TDT, avec formation de la région N. La zone jonctionnelle (VNJ ou VNDNJ) ainsi formée est considérée par sa taille et sa séquence, comme un marqueur spécifique de clonalité des cellules lymphoïdes.

Ce phénomène est complété par l'apparition de mutations somatiques en réponse à l'antigène sous l'action de l'AID dans les centres germinatifs. Cette étape aboutit à la création de mutations dans les régions hypervariables des gènes des chaînes lourdes et

légères. L'analyse de la charge en mutations donne une indication sur le parcours de la cellule B naïve, centre germinatif, post-germinatif...

En dehors des réarrangements des gènes des Ig ou du TCR, les cellules lymphoïdes peuvent être le siège de réarrangements pathologiques dus à des translocations.

I. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE

I.1. L'épidémiologie

Au niveau international, les études épidémiologiques élaborées ont permis de conclure que les LNH occupent le septième rang des cancers les plus répandus, et représentent la seule hémopathie maligne dont l'incidence augmente significativement depuis les années 70, comptant plus de 280000 nouveaux cas tous les ans, ce qui représente une augmentation d'environ 3-4 % [13, 14, 15, 16]. Ces statistiques ont été observées particulièrement en Europe de l'Ouest, en Amérique du Nord et en Australie. Cette augmentation peut être le résultat d'un meilleur diagnostic ou de la modification des systèmes de classification.

Par contraste, les taux de mortalité ont, en règle générale, diminué en conséquence des améliorations du traitement [17, 18].

En France, avec environ 10000 nouveaux cas par an (soit 15 à 20 nouveaux cas/100 000 habitants/an), les LNH ne représentent que 3 à 4 % de l'ensemble des cancers [19,20].

Au Maroc, selon le registre des cancers de Rabat, l'incidence brute des LNH est estimée en 2005 à 5.1% pour 100 000 habitants, ils ont constitué 41.6 % de l'ensemble des hémopathies malignes [21].

Selon les résultats du registre du cancer du grand Casablanca (2004), les LNH ont représenté le troisième cancer de l'homme avec une incidence de 6.1% [22]. Dans notre travail, les LNH (190 cas) ont occupé 5.81 % de tous les cancers diagnostiqués (3285 cas) et 75,7% des hémopathies malignes (251 cas) au laboratoire d'Anatomie Pathologique.

Par ailleurs, l'incidence des LNH augmente avec l'âge, ainsi selon F. Drouet et al. [19]. l'âge moyen au moment du diagnostic se situe autour de 65 ans. Selon le registre du cancer de Rabat l'âge moyen était de 47.7 ans pour l'homme et 48.7 ans pour la femme.

L'âge de nos patients est compris entre 40 et 80 ans avec un âge moyen de 61 ans, ce qui rejoint les données de la littérature.

A la lumière des résultats publiés par Eve Roman et al. [23,24] parmi les 12.68 million nouveaux cas de cancer estimé dans le monde au cours l'année 2008, 6.64 million étaient des hommes et 6.04 million étaient des femmes. Les cancers hématologiques sont estimés à 7.5% pour les hommes et 6.4% pour les femmes. Dans les deux sexes, les lymphomes représentent approximativement la moitié des nouveaux cas de cancer hématologique diagnostiqués. De même, au Canada, le LNH est plus répandu chez les hommes que chez les femmes (taux standardisé selon l'âge, à l'échelle mondiale, 14,6/100 000 hommes et 10,5/100 000 femmes [14, 16]. L'incidence des LNH est plus élevée chez les Américains blancs que chez les Afro-Américains [16].

Dans notre série, la fréquence du sexe masculin était de 79% contre 21% de sexe féminin avec un sex-ratio de 3.8. Nos résultats rejoignent ainsi les données rapportées dans la littérature.

1.2. Les facteurs de risque

Les causes précises de ces lymphomes sont inconnues, néanmoins un certain nombre de facteurs de risque ont été retenus:

- Ø Le VIH-1 qui est incriminé dans le lymphome folliculaire [19,25].

- Ø Les antécédents familiaux de cancers hématologiques.

- Ø Les maladies auto-immunes, telles que le syndrome de Sjögren, l'arthrite rhumatoïde, la sclérodermie, et la sarcoïdose [26].

- Ø L'exposition aux médicaments immunodépresseurs, tels que l'azathioprine et la cyclosporine [19, 25].

- Ø L'exposition aux radiations ionisantes [19,25].

- Ø Le travail agricole et plus particulièrement le travail avec des herbicides, l'exposition aux chlorophénols, l'exposition professionnelle aux solvants (trichloroéthylène, tétrachloroéthylène) et à la 2, 3, 7, 8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine (TCDD) [14].

II. CLASSIFICATION DES LNH

1. Historique de la classification des lymphomes

Rudolf Virchow a décrit le premier les leucémies en 1845 [27]. Il a utilisé ensuite le terme lymphosarcome pour la première fois en 1863, mais c'est Théodore Billroth qui a proposé le terme de lymphome malin en 1871. Peu de temps auparavant, Sir Thomas Hodgkin avait décrit en 1832 un syndrome caractérisé par le développement d'adénopathies à qui son nom sera donné ultérieurement.

Le terme de lymphome, à la fin du 19^{ème} siècle et au début du 20^{ème} siècle, a désigné des tumeurs essentiellement ganglionnaires et spléniques. Beaucoup de ces tumeurs sont considérées comme provenant de la prolifération des cellules du système réticulo-endothélial décrit par Aschoff. D'où les termes successifs de réticulosarcome, de sarcome rétothélial, de réticulose maligne, puis de lymphome histiocytaire.

La classification utilisée avant 1965 a distingué le réticulosarcome, le lymphosarcome, le lymphoréticulosarcome et les lymphomes folliculaires, à côté de la maladie de Hodgkin.

En fait, c'est en 1965 que la première classification ayant vraiment une valeur pronostique est proposée par Henry Rappaport aux USA. Mais rapidement en raison des progrès réalisés dans la connaissance du système lymphoïde et de l'immunité, les bases justifiant la terminologie utilisée (lymphocytaire bien ou peu différencié, histiocytaire bien ou peu différencié) sont remises en cause.

En 1973, deux équipes ont proposées chacune une classification basée sur des données plus récentes [28, 29]. Toutes les variétés des lymphomes dans ces classifications reconnaissent une origine lymphoïde. La notion de transformation des petits lymphocytes en grandes cellules au métabolisme actif, les immunoblastes, a expliqué l'existence des lymphomes à grandes cellules. Ces deux équipes sont celles de Karl Lennert de Kiel en Allemagne et de Robert Lukes aux USA.

Au cours des années soixante-dix, une grande confusion a régné dans l'étude histopathologique des lymphomes malins.

Près d'une dizaine de classifications sont proposées et utilisées dans le monde, témoignant des efforts de nombreuses équipes pour proposer une classification satisfaisante. Dans la fin des années soixante-dix, le national cancer institute des USA a organisé une vaste étude où un groupe de pathologistes experts ont revu plus de 1000 cas de lymphomes. Ils utilisaient 6 des classifications les plus répandues, une comparaison avec les données évolutives devant permettre de choisir la meilleure d'entre elles pour l'appréciation de l'évolution. La proposition finale a été une «formulation de travail pour usage clinique» souvent désignée couramment par les initiales WF (working formulation for clinical usage). En fait, il ne s'agit pas d'une réelle classification reposant sur un concept scientifique, mais plutôt d'une sorte de table de conversion permettant aux cliniciens de traduire les différents termes utilisés pour désigner une entité afin de pouvoir comparer les résultats d'une classification à l'autre. La WF répartit les différents types qu'elle reconnaît en trois groupes de pronostic différent : bas et haut grade, avec un grade intermédiaire [11, 27, 28, 29].

En 1988, le Club Européen des lymphomes (European Lymphoma Club) créé par Karl Lennert dès 1973 a testé puis a proposé une version actualisée de la classification de Kiel datant de 1975. Cette classification a toujours utilisé les mêmes critères morphologiques (taille de la cellule, chromatine nucléaire dispersée ou mottée, nucléoles) pour distinguer des lymphomes de faible et de haut grade. Mais en plus, pour la première fois, sont introduits des critères immunologiques, basés sur les résultats de l'immunohistochimie. En distinguant les lymphomes de type B de ceux de type T. Cette introduction des lymphomes T a été rendue possible par les résultats d'une coopération entre le groupe de Kiel et des pathologistes japonais. Cette classification depuis la fin des années quatre-vingts a été de plus en plus utilisée en particulier en Europe parfois même aux Etats-Unis [11, 27, 28, 29].

Toutefois cette classification de Kiel actualisée était essentiellement destinée aux lymphomes ganglionnaires. La description par Peter Isaacson et Dennis Wright des lymphomes B extra-ganglionnaires, surtout à partir des années quatre-vingt-dix, a montré la nécessité d'actualiser encore la classification de Kiel. Ceci a été fait dans la seconde édition du livre sur les lymphomes, publié par Karl Lennert et Alfred Feller en 1990 puis

1992, ainsi que dans des publications plus récentes. Mais parallèlement, un nouveau groupe d'hématopathologistes, l'International Lymphoma Study Group (ILSG) a publié une classification désignée par l'acronyme REAL (Revised European-American Lymphoma). Cette nomenclature se refuse de distinguer sur de simples critères morphologiques des lymphomes de faible ou de grande malignité. Elle a utilisé le concept d'entités déjà employé dans la classification de Kiel actualisée et comme cette dernière, elle a distingué des lymphomes B et T ainsi que la maladie de Hodgkin. L'un des intérêts de cette nomenclature de l'ILSG c'est de faire accepter par les cliniciens et pathologistes nord-américains les concepts proposés par la classification de Kiel depuis des années [11, 27, 28,29].

Peu de temps après la proposition de cette classification par l'ILSG, le responsable de la classification des tumeurs de l'OMS « Dr Sobin » a proposé la réalisation d'un grand projet international de classification des néoplasies développées à partir des tissus hématopoïétiques et lymphoïdes. Ce projet a visé de remplacer la classification publiée par l'OMS en 1976 mais jamais utilisée. Il est finalement décidé en 1995 de mettre ce projet sous la responsabilité des deux sociétés d'hématopathologie, l'«European Association for Hemaotopathology».

La base de la classification est représentée par la définition d'entités comme dans les classifications de Kiel et de l'ILSG. Ces entités sont réparties en trois groupes :

- Ø Les néoplasies des cellules lymphoïdes B dont les néoplasies plasmocytaires.
- Ø Les néoplasies des cellules lymphoïdes T.
- Ø La maladie (ou lymphome) de Hodgkin

Chaque entité est définie sur les critères suivants :

- Le siège ganglionnaire ou extra-ganglionnaire.
- La morphologie des cellules.
- L'architecture.
- L'immunophénotypage.
- La cytogénétique.
- La biologie moléculaire.
- La présentation clinique.

- La cellule d'origine si possible.

Les néoplasies des lignées de la moelle osseuse, des mastocytes et des histiocytes n'étaient pas abordées dans cette classification.

L'OMS a publiée en 1999 un livre qui élucide en détail chaque entité de la classification.

La classification OMS des tumeurs hématopoïétiques et des organes lymphoïdes publiée en 2001 est basée sur la description des entités définies par un ensemble de critères, morphologiques, immunophénotypiques, génétiques et cliniques. Elle reprenait en la complétant la « REAL classification ». En effet, depuis 2001 de nouvelles entités ont été décrites.

D'autres proliférations qui n'étaient considérées que comme des sous types ou des variantes d'entités reconnues ont acquis un statut d'entité à part entière dans la classification 2008. Ces dernières années, les progrès réalisés dans les techniques de biologie moléculaire (analyse du transcriptome et CGH-arrays) ont permis de déterminer la signature moléculaire de certains lymphomes et ces données méritaient d'être incorporées dans la définition de certaines entités. L'importance relative de chacun des critères morphologiques, immunophénotypiques, génétiques et cliniques a varié d'un lymphome à l'autre mais les critères morphologiques et immunophénotypiques restaient la pierre angulaire du diagnostic. Néanmoins, le diagnostic de certaines proliférations a nécessité une connaissance de la présentation clinique (ganglionnaire ou extra-ganglionnaire) ou localisations privilégiées à certains organes. Une autre particularité de la nouvelle classification est de mettre l'accent sur les particularités liées à l'âge (exemple lymphome folliculaire de l'enfant ou lymphome à grandes cellules EBV+ du sujet âgé). Schématiquement dix nouvelles entités de lymphomes B et huit développés à partir des lymphomes T sont maintenant reconnues.

Comme la classification précédente, deux grands types de lymphomes sont distingués, ceux développés à partir des précurseurs lymphoïdes (leucémies/lymphomes lymphoblastiques) et ceux développés à partir des cellules B ou T/NK matures/périphériques [11, 30].

2. La classification OMS 2008 des LNH

Selon la nouvelle classification de l'OMS, plusieurs entités histologiques ont été catégorisées de la façon suivante [11, 2] :

Les Lymphomes développés à partir des précurseurs

Leucémies -lymphomes lymphoblastiques :
Lymphomes développés à partir des précurseurs B.
Lymphomes développés à partir des précurseurs T.

Les lymphomes développés à partir des lymphocytes B périphériques

Leucémie lymphoïde chronique B/ lymphome lymphocytaire.
Leucémie prolymphocytaire.
Lymphomes spléniques de la zone marginale.
Leucémie à tricholeucocyte (LT).
Leucémie/ lymphome B splénique inclassable.
Lymphome lymphoplasmocytaire.
Maladie des chaînes lourdes.
Prolifération lymphocytaire/ myélome.
Lymphomes de la zone marginale développés à partir des cellules lymphoïdes associées aux muqueuses (lymphome de type MALT).
Lymphomes de la zone marginale ganglionnaires.
Lymphome folliculaire.
Lymphome folliculaire cutané primitif.
Lymphome développé à partir des cellules du manteau.
Lymphome B diffus à grandes cellules sans spécification.
Lymphome B diffus à grandes cellules riche en cellules T/histiocytes.
Lymphome B à grandes cellules cérébral primitif.
Lymphome B à grandes cellules des jambes.
Lymphomes B diffus à grandes cellules des personnes âgées (sénile).
Lymphome B à grandes cellules sur inflammation chronique.
Granulomatose lymphomatoïde.
Lymphome médiastinal (thymique) à grandes cellules B.
Lymphome B à grandes cellules intravasculaire.

Lymphome B à grandes cellules ALK-positif.
Lymphome plasmoblastique.
Lymphome B à grandes cellules sur lésions de maladie de Castelman HHV-8+.
Lymphome primitif des séreuses.
Lymphome de Burkitt.
Lymphome B intermédiaire entre LBDGC et lymphome de Burkitt.
Lymphome B intermédiaire entre LBDGC et lymphome de hodgkin classique.

Les lymphomes T matures et cellules natural Killer (NK)

Leucémie prolymphocytaire T (LPL).
Leucémie à grands lymphocytes T granuleux (LGL).
Désordres lymphoprolifératifs chroniques à cellules NK.
Leucémie agressive à cellules NK.
Désordres lymphoprolifératifs T EBV- positifs de l'enfance.
Lymphomes/ leucémies T de l'adulte associés au virus HTLV-1.
Lymphomes NK / T extra-ganglionnaires de « type nasal ».
Lymphome T associé à une entéropathie.
Lymphome T gamma/delta hépatosplénique.
Lymphome T sous cutané simulant une panniculite.
Lymphoproliférations T cutanées CD30 positives.
Rares sous types de lymphomes cutanés primitifs.
Lymphome T périphérique (sans spécification).
Lymphome T angio-immunoblastique (T-LAI).
Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK-positif.
Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK-négatif.

Les lymphomes des patients immunodéprimés :

Lymphoproliférations associées à un déficit immunitaire primitif.
Lymphomes associés à l'infection par le VIH.
Lymphomes des sujets transplantés.
Syndromes lymphoprolifératifs d'origine iatrogène.

III. ETUDE CLINIQUE

1. L'évaluation clinique :

Elle est basée sur l'interrogatoire ainsi que l'examen clinique. Il faut déterminer les paramètres qui influencent la prise en charge thérapeutique comme l'âge, le score OMS (tableau 5), la présence des signes généraux d'évolutivité qui sont la perte du poids, la fièvre et les sueurs nocturnes [23, 31].

La palpation des aires ganglionnaires périphériques, avec détermination des résultats sous forme d'un schéma daté en rapportant la taille des adénopathies éventuellement retrouvées. L'examen abdominal à la recherche d'une organomégalie (hépatomégalie ou splénomégalie) ou d'une masse intra-abdominale. L'examen de la sphère ORL avec inspection des amygdales, de l'anneau de Waldeyer et des fosses nasales. [26, 32].

Tableau 5: Score d'activité de l'OMS [29]

Score	Définition
0	Patient ambulatoire et asymptomatique
1	Présence de symptômes, gêne dans les activités physiques ou soutenues, mais patient ambulatoire
2	Symptomatique, le patient reste capable de s'occuper de lui même mais le repos quotidien est nécessaire (alitement < de 50% du temps de veille)
3	Repos et alitement >50% du temps de veille (peut encore effectuer seul les activités simples pour s'occuper de lui même)
4	Confiné au lit (nécessite l'aide d'une tierce personne pour s'occuper de lui-même)

2. Les signes fonctionnels ganglionnaires

Les adénomégalias multiples représentent le principal signe fonctionnel rapporté dans toutes les séries. Toutes les chaînes ganglionnaires peuvent être concernées. Les adénopathies ont une consistance ferme. Elles sont de taille variable et persistantes sur plus d'un mois. Elles ne sont ni douloureuses ni inflammatoires [19, 32,31].

3. Les signes fonctionnels extra-ganglionnaires

Les manifestations cliniques extra-ganglionnaires les plus répandues sont les signes digestifs, les signes ORL et les signes neurologiques [31,32].

Les données de notre étude rejoignent celles de la littérature. En effet, la polyadénopathie est notée chez tous les patients alors que les autres manifestations cliniques sont représentées par les signes ORL, neurologiques et cutanés.

4. Les signes généraux

Il s'agit de signes non spécifiques qui comprennent [19, 31, 32] :

- L'amaigrissement est souvent modéré et inconstant.
- La fièvre inexpliquée > 38,5 sans cause infectieuse.
- L'asthénie et l'anorexie qui sont plus ou moins fréquentes.

Dans notre série, nous avons observé que ces signes généraux ne sont pas constants. Les signes les plus retrouvés étaient l'asthénie et l'amaigrissement. La fièvre n'était observée que dans 23.5% des cas.

5. Les complications

Selon la littérature, l'analyse fine de la clinique permet d'orienter vers une histologie d'un lymphome agressif qui peut se manifester à travers de multiples complications [25, 33, 36, 37, 38] :

5.1. Le syndrome cave supérieur :

Ce type de syndrome ayant une apparition souvent rapide, il se traduit par une polypnée à type d'orthopnée, une circulation veineuse collatérale thoracique supérieure, un œdème du visage et des membres supérieurs.

5.2. La masse abdominale :

La présence d'une masse abdominale peut se compliquer par une compression de la veine cave, du tube digestif avec tableau d'occlusion et des uretères avec tableau d'insuffisance rénale aiguë.

5.3. La compression médullaire :

Elle est liée à une localisation osseuse ou à une épidurite, avec ou sans envahissement méningé.

5.4. Le syndrome de Claude Bernard-Horner :

Il est lié à une compression du nerf sympathique cervical, il est rare et souvent lié à une localisation sus-claviculaire.

Dans notre travail, la révélation de la maladie par des complications n'était observée chez aucun patient.

IV. Données paracliniques

Le diagnostic des LNH étant affirmé par l'histologie, un bilan paraclinique complet doit être réalisé au plus vite afin de déterminer l'extension précise de la maladie.

L'objectif étant de définir le pronostic individuel de la maladie pour proposer une stratégie thérapeutique adaptée.

1. Evaluation biologique :

Le bilan biologique vise à chercher les signes inflammatoires, et les autres signes d'évolutivité de la maladie.

Les signes inflammatoires sont représentés par l'accélération de la VS, l'augmentation de la

CRP, l'hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles, l'hyper-fibrinémie, l'hyper- α_2 globulinémie et l'augmentation du taux des plaquette tandis que les signes biologiques d'évolutivité comprennent l'anémie, la lymphopénie, et l'augmentation du taux de LDH sérique et de la b2-microglobuline (ces deux derniers paramètres indiquent l'importance de la masse tumorale et ils sont de mauvais pronostic) [31, 33].

D'autres anomalies ne sont pas spécifiques, mais il est préférable de les étudier comme l'hyper-éosinophilie et la cytopénie. Elles traduisent soit un envahissement médullaire soit une hémolyse. La thrombopénie et l'augmentation des phosphatases alcalines signifient une atteinte hépatique, médullaire ou osseuse. La choléstase peut être la conséquence d'une obstruction des voies biliaires par des adénopathies compressives, ou d'une localisation intra-hépatique massive [34, 34].

En plus des bilans précédents, les autres bilans biologiques à réaliser sont :

- L'électrophorèse des protéines sériques qui sert à chercher un pic monoclonal [23].
- L'ionogramme avec fonction rénale qui vise à chercher la dénutrition et permet l'évaluation de l'aptitude au traitement.
- Le myélogramme et la biopsie ostéomédullaire (BOM) avec immunophénotypage qui doivent être réalisés pour chercher une infiltration médullaire ou sanguine.
- La ponction lombaire qui sert à chercher une infiltration lymphomateuse de la moelle épinière.

Dans notre série, 70.6% des patients ont présenté une anémie hypochrome microcytaire, un patient (5.9%) a présenté une lymphopénie, 76.5% de nos malades avaient un taux de LDH sérique élevé et 47% avec un taux de b2 microglobulinémie élevé. Le syndrome inflammatoire a été noté dans 53% des cas. 3 patients seulement (17.6%) avaient une infiltration médullaire. L'immunophénotypage a orienté vers une LLC dans un seul cas.

2. Evaluation radiologique

Les données de l'imagerie sont déterminantes pour l'exploration de l'extension de la maladie. Ces données servent de référence dans l'évaluation de la réponse au traitement par la chimiothérapie et/ou la radiothérapie.

Les investigations rapportées dans la littérature sont:

- Selon Lee.CK et al. [36], la radiographie du thorax a longtemps servi de référence dans le bilan d'extension. Elle permet de mettre en évidence un élargissement médiastinal (médiastin« bulky »), ou une opacité thoracique.
- L'échographie abdominale permet de mettre en évidence une masse abdominale en précisant sa consistance solide ou liquidienne, son siège et ses rapports ; un épaississement de la paroi intestinale, des adénopathies abdomino-pelvienne ou une hépato-splénomégalie [37].
- Selon Fishman EK et al. [38], le scanner thoraco-abdomino-pelvien (TAP), de préférence avec injection, est essentiel pour évaluer l'extension ganglionnaire et viscérale de la maladie. Afin de faciliter le suivi, il est recommandé d'utiliser une épaisseur de coupes reconstruites de 5 mm. Il permet de mettre en évidence des adénopathies profondes, un épaississement digestif, un épanchement péritonéal, un nodule pulmonaire ou une hépatosplénomégalie.
- Selon Rahmouni A et al. [39, 40, 41], l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) n'a un rôle complémentaire que dans les lymphomes localisés, en particulier cérébral et osseux où elle est nettement supérieure au scanner pour la détection des lésions.
- Toute autre exploration spécifique d'organe en cas de signe d'appel comme le scanner cérébral, la radiologie interventionnelle [37].
- Le Pet-scan a l'avantage d'apporter en un seul examen une réponse plus performante dans le dépistage de localisations nodales et extra-nodales [42]. Selon F. Montravers et al. [37], le nombre de Pet-scan réalisé pour la stadification et le suivi des lymphomes est en constante augmentation depuis les dernières

années, sa réalisation est recommandée chaque fois que possible parce qu'il fait parti intégrante du bilan d'extension initial et du suivi de la maladie.

Dans notre série, tous les patients ont bénéficié d'une radiographie thoracique, 88.2% (15 patients) ont bénéficié d'un TAP, 11.8% ont réalisé une échographie abdominale (2 patients), un seul patient a réalisé une endoscopie digestive et un seul patient a réalisé une radiographie du squelette.

Les autres investigations n'étaient pas réalisées dans notre série.

- Le bilan préthérapeutique comporte d'une part l'ECG et d'autre part l'échocoeur. L'ECG vise à chercher des troubles du rythme, ou de repolarisation, ceci permet de limiter la chimiothérapie. L'échocoeur permet de déterminer la fraction d'éjection isotopique. Elle est systématique pour tous les patients allant recevoir des anthracyclines, et en cas de mise sous Rituximab ou autres chimiothérapies potentiellement cardiotoxiques.

V. ETUDE ANATOMO-PATHOLOGIQUE

Le diagnostic des LNH de phénotype B de bas grade ganglionnaire est histologique. Il repose sur la réalisation de prélèvements à l'aide de différents moyens qui servent par la suite à une étude analytique.

1. Moyens d étude

1.1. Prélèvements

1.1. a . La cytoponction ganglionnaire

La cytoponction ganglionnaire est un geste simple, non invasif et peu douloureux, facile à réaliser devant toute adénopathie superficielle. Elle permet le plus souvent une orientation diagnostique [6, 43, 44, 45].

La ponction se fait en réalisant les étapes suivantes:

- Ø Immobiliser le ganglion
- Ø Introduire une aiguille de 21 à 23 G

- Ø Réaliser 3 à 4 « aller-retour » dans le ganglion
- Ø Retirer l'aiguille sans aspiration afin de ne pas altérer les cellules ganglionnaires
- Ø Déposer le suc ganglionnaire sur une lame à l'aide d'une seringue remplie d'air
- Ø Réaliser les frottis avec des étalements
- Ø Fixer et colorer les lames.

Dans notre série, la cytoponction ganglionnaire n'a été réalisé chez aucun malade.

1.1. b . La biopsie exérèse ganglionnaire

Rappelons que toute adénopathie ayant une taille de plus de 1 centimètre, évoluant depuis plus d'un mois et ne faisant pas sa preuve, doit être biopsiée [31, 32]. En cas d'adénopathie superficielle, la biopsie-exérèse ganglionnaire est une chirurgie assurée le plus souvent par un spécialiste ORL. Elle nécessite une concertation entre clinicien, chirurgien et anatomopathologiste [6, 19, 43].

La prise en charge du matériel doit être minutieuse :

- Réalisation des appositions sur lames avec coloration au MGG (May Grunwald Giemsa) pour l'analyse en monocouche cellulaire.
- Fixation d'une partie dans le formol tamponné à 10%, qui permettra une étude morphologique sur coupe tissulaire et une conservation d'un bloc tissulaire en paraffine pour la tumorothèque.
- Congélation d'un fragment pour conserver au maximum les structures antigéniques à la surface cellulaire et le marquage immunologique.
- Resuspension d'une partie qui permettra une analyse du phénotype immunologique par cytométrie en flux, le caryotypage des cellules et la constitution d'une tumorothèque pour des études ultérieures en biologie moléculaire.

Dans notre série, tous les patients ont bénéficié d'une biopsie exérèse ganglionnaire. Nous signalons que l'étude immunohistochimique a été réalisée sur des prélèvements conservés en paraffine.

En cas d'adénopathies profondes, le prélèvement peut se faire par la médiastinoscopie, la cœlioscopie ou la laparotomie. La microbiopsie nécessite un radiologue et un anatomopathologiste expérimentés.

1.2. Techniques :

Les prélèvements adressés au service passent par plusieurs étapes :

a. L'Obtention des coupes :

La fixation :

La fixation a pour but de s'opposer à la déshydratation prématurée des cellules et surtout à la putréfaction des tissus.

Le fixateur utilisé dans notre service est le formol 10 %. Il permet une bonne étude immunohistochimique (IHC).

La déshydratation :

L'échantillon tissulaire est fixé, puis progressivement déshydraté par passages successifs dans des solutions alcooliques de plus en plus concentrées jusqu'à ce que toute l'eau (des tissus et du milieu de fixation) ait été soustraite et que l'échantillon soit totalement imprégné d'alcool absolu. L'alcool est ensuite remplacé par un solvant organique dans lequel peuvent se dissoudre à la fois l'alcool et la paraffine (la paraffine n'est pas soluble dans l'alcool).

L'inclusion en paraffine chauffée :

L'échantillon est alors immergé dans de la paraffine chauffée à une température dépassant juste son point de fusion, puisque celle-ci est solide à température ambiante.

Le refroidissement :

Une fois l'échantillon bien imprégné, on le laisse refroidir dans un moule rempli de paraffine qui se solidifie.

La réalisation des coupes :

En se refroidissant, le fragment, imbibé de paraffine, se trouve inclus dans un bloc solide à partir duquel, des coupes de 4 microns d'épaisseur sont obtenues.

La réhydratation :

Une fois les plans de coupe réalisés, ils sont déposés sur une lame de verre. La paraffine est dissoute par un solvant organique avant un temps de réhydratation par des solutions alcooliques de plus en plus diluées. Quand la réhydratation est achevée, les coupes sont colorées.

b. La coloration des coupes par Hématéine-Eosine-Safran (HES) :

- § La coloration par l'hématéine se fait pendant 5 à 7 min (teintant les noyaux en bleu ou en noir). Par la suite il faut :
- § Rincer à l'eau courante puis à l'eau distillée.
- § Transférer dans l'alcool acide (facultatif).
- § Rincer à l'eau courante puis distillée.
- § Colorer dans une solution d'éosine à 1 % pendant 2 min (teintant le cytoplasme en rose ou Rouge).
- § Rincer rapidement à l'eau courante.
- § Déshydrater dans l'alcool à 100°.
- § Colorer dans le safran alcoolique pendant 1 min (se fixe sur le tissu conjonctif).
- § Passer rapidement dans les alcools (Méthanol - Ethanol pour éclaircissement).
- § Montage au toluène.

La coupe ainsi colorée, est alors protégée définitivement par une lamelle de verre collée à l'aide d'un produit synthétique transparent qui se polymérise à l'air.

c. L'étude en microscopie optique :

L'observation des coupes colorées est effectuée à l'aide d'un microscope optique. Cet appareil permet d'obtenir une image agrandie (20 à 1000 fois) par une combinaison optique de la coupe éclairée par une lumière qui la traverse.

d. L'immunohistochimie :

Une étude immunohistochimique (IHC) est réalisée dans 27 cas (96%). Les anticorps utilisés sont : CD20, CD3, CD5, CD23, CD10, Ki67, cycline D1, bcl2 et bcl6.

La technique ainsi que les anticorps disponibles seront détaillés dans les tableaux 6 et 7.

Le siège du marquage est membranaire pour le CD20 et le CD10 et nucléaire pour Ki67.

Le marquage par le CD3 (clone PSI) est cytoplasmique avec une accentuation péri nucléaire ou golgienne; il est rarement membranaire.

On désigne les cas comme ayant une prolifération élevée, si plus de 30% des cellules néoplasiques montrent une coloration nucléaire positive pour le Ki67. Le niveau d'isolement est placé à 30% pour le bcl-2.

Le Ki67 est considéré comme le marqueur le plus fiable de la prolifération cellulaire.

Tableau 6- Technique d'immunohistochimie

1. Préparation à la technique (déparaffinage)	
Passage à l'étuve (37°C)	1 nuit
Toluène (2 bains)	5 - 10mn
Alcool absolu (3 bains)	5 - 10mn
Rinçage à l'eau courante	10mn
2. Technique	
Egoutter les lames	
Passage dans H ₂ O ₂ à 0,4% (H ₂ O ₂ concentré)	10mn
Rinçage à l'eau courante	10mn
Passage au bain-marie (95°) dans du TP Citrate (a)	20mn
Laisser à température ambiante (b)	10 - 15mn
a et b pour les Anticorps I nécessitant un démasquage	
Egoutter les lames et entourer les fragments (fragment) par le PAP-	
Rincer avec du PBS (1 bain)	5mn
Mettre le bloquant sur le fragment (1 – 2 gouttes / fragment)	10mn
Disposer les lames dans une « chambre humide »	
Enlever le surplus du bloquant en secouant	
Application de l'anticorps I (1 – 2 gouttes / fragment) ; ne pas	1h
Couvrir les lames pour qu'elles ne sèchent pas	
Egoutter un peu les lames ; les mettre dans un panier	
Rinçage dans du PBS (2 bains)	5mn chacun
Application de l'anticorps II (1 – 2 gouttes / fragment)	15mn
Couvrir les lames pour qu'elles ne sèchent pas	
Rinçage dans du PBS (2 bains)	5mn chacun
Application de la peroxydase	15mn
Rinçage dans du PBS (2 bains)	5mn chacun
Egoutter les lames	
Application sur chaque lame de 2 gouttes de « substrat-	10 - 15mn
Rinçage à l'eau courante	10mn
Egoutter les lames	
Application de l'hématoxyline	2mn
Rinçage à l'eau de robinet	
Passage rapide dans du Carbonate de Lithium saturé	quelques s
Rinçage à l'eau de robinet	
Rinçage à l'eau distillée	
3. Montage à l'eau	

Tableau 7 : Les anticorps disponibles pour l'hématopathologie et leurs principales réactivités cellulaires

Antigènes (CD) différenciation cellulaire	Anticorps (clone) Laboratoire	Principale réactivité cellulaire	Intérêt en Hématologie
CD20	L26	Cellules B excepté les pré-B et les plasmocytes	LNH B
CD3	UCHT1	Cellules T	LNH T
CD10	56C6	Cellules B du centre folliculaire, cellules lymphoïdes précurseurs, granulocytes	Lymphome folliculaire Lymphome de Burkitt Lymphome lymphoblastique B
Bcl2	RTU-bcl2	Majorité des cellules B et T excepté les Cellules réactionnelles du centre clair folliculaire	Lymphome folliculaire Lymphome de MALT
CD5	4C7	Cellules T et sous-classe de cellules B sécrétant des IgM : cellules B1	Lymphome lymphocytaire Lymphome du manteau Lymphome et leucémie à cellules T
CD23	DAK-CD23	Cellules B activées	Leucémie lymphoïde chronique
CD43	DF-T1	Cellules T, monocytes, granulocytes et certaines Cellules B	Lymphome de MALT intestinal Lymphome lymphoblastique B Lymphomes T
Cycline D1	EP12	Cellules en cycle	Lymphome du Manteau
Ki67	MM1	Cellules en cycle	Indice de prolifération

e. La cytogénétique et la biologie moléculaire :

Dans notre série, l'étude cytogénétique et moléculaire n'a été réalisée chez aucun patient.

v Cytogénétique : Technique FISH :

La FISH est le principal outil de la cytogénétique moléculaire. Le pouvoir de résolution de la FISH (dans certaines conditions moins de 1Kb) permet une analyse fine de la structure des chromosomes. Les applications en sont multiples tant en recherche qu'en diagnostic (caractérisation ou détection d'un remaniement chromosomique de petite taille...). Les laboratoires de cytogénétique utilisent actuellement de manière courante ces nouvelles méthodes devenues indispensables en complément de la cytogénétique classique pour les anomalies chromosomiques acquises au cours des tumeurs.

Le principe général de la FISH est illustré par la figure 14. Les techniques d'hybridation in situ sont fondées sur la propriété de réassociation spécifique des acides nucléiques. Une sonde dénaturée (ADN simple brin marqué) en solution peut s'hybrider spécifiquement avec sa séquence cible (préparation chromosomique dénaturée) grâce à la complémentarité des bases nucléotidiques. La sonde s'apparie par des liaisons hydrogènes établies selon les critères de Watson et Crick. Les hybrides infidèles et les molécules de sonde non hybridées sont éliminés par lavages, puis les hybrides spécifiques sont révélés, en général par immunodétection et enfin l'observation s'effectue grâce à un microscope à épifluorescence. L'introduction de marqueurs non radioactifs a permis de s'affranchir de la lourdeur des techniques utilisant des radio-isotopes réservés aux laboratoires de recherche.

De nombreuses améliorations ont permis d'obtenir une qualité et une reproductibilité remarquable (sondes clonées, amélioration des solutions d'hybridation....). Son utilisation pratique est relativement facile et rapide.

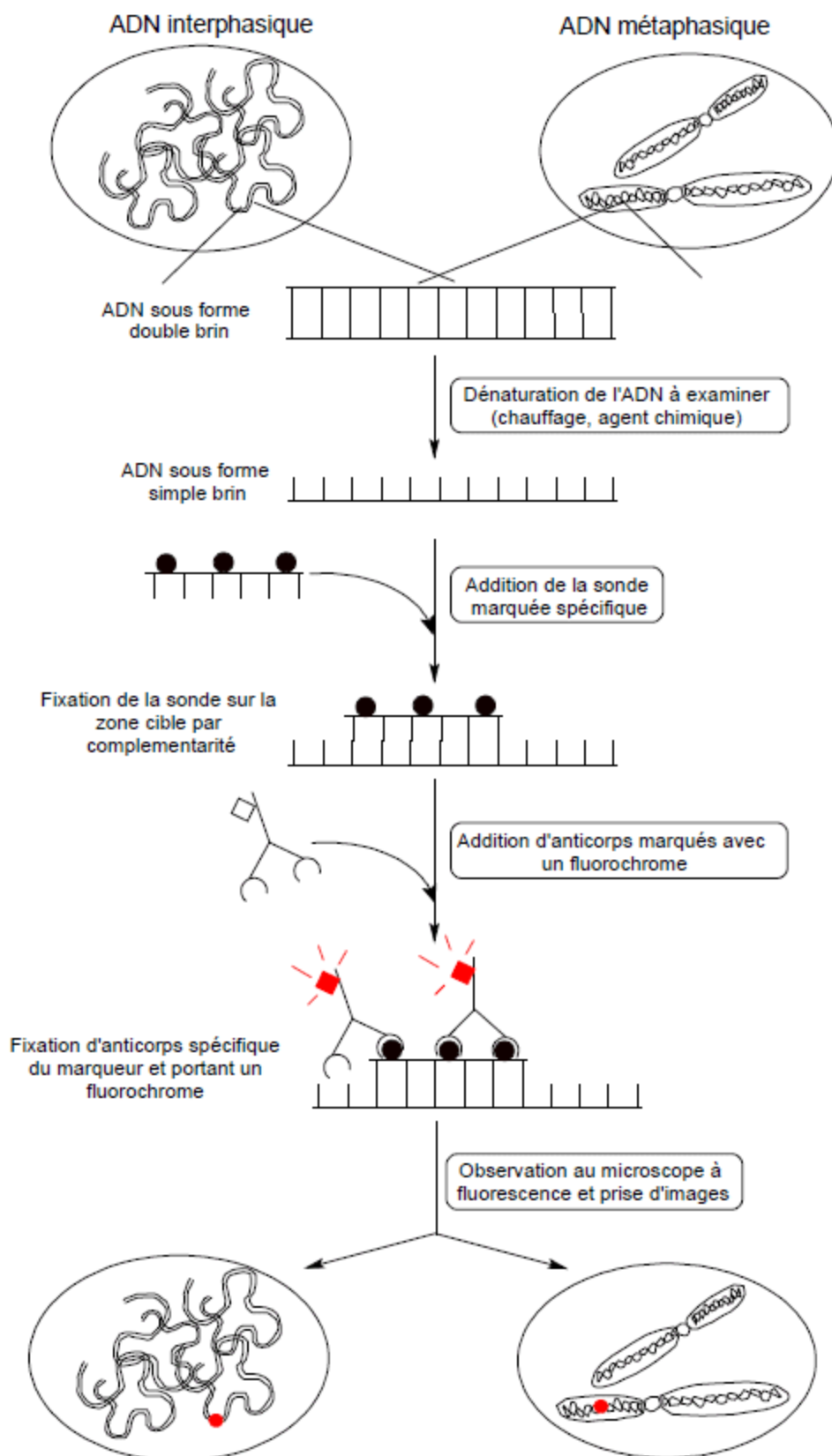


Figure 14 : Principe générale de la FISH

- Diversité des sondes :

De nombreuses sondes sont actuellement disponibles et commercialisées, elles sont principalement de 4 types :

- Peinture chromosomique (spécifique d'un chromosome entier)
- Locus spécifique (correspondant à un petit fragment chromosomique)
- Télomérique
- Centromérique.

L'ADN est obtenu après clonage dans un vecteur ou par synthèse in vitro.

Une méthode permet par diverses approches d'obtenir un caryotype "en couleur" grâce à l'utilisation de l'informatique et du traitement d'image : chaque chromosome est repéré par une combinaison spécifique de fluorochromes et donc une couleur qui lui est spécifique.

- Marquage des sondes

Pour permettre leur détection spécifique les sondes sont marquées soit par des procédés enzymatiques par introduction d'haptène (biotine, digoxigénine), soit par procédés chimiques. Actuellement de nombreux fournisseurs proposent des sondes directement marquées par des fluorochromes modifiés.

- Préparation des cibles

Elle est habituellement identique à la cytogénétique classique : préparation de lames de chromosomes en métaphase ou prométaphase. Des préparations spécifiques particulières sont parfois employées : études en interphase, chromatine étirée, peignage moléculaire de l'ADN, coupes tissulaires...

- Détection des sondes

-Détection par immunofluorescence: Les sondes marquées par des haptènes sont révélées par immunoréaction grâce à des anticorps spécifiques couplés à des fluorochromes. Le montage peut comporter un seul anticorps (immunodétection directe) ou plusieurs anticorps superposés pour amplifier le signal (immunodétection indirecte). La difficulté est ici d'obtenir un rapport signal/bruit satisfaisant avec un minimum de bruit de fond.

- Détection directe : Les sondes étant directement fluorescentes, la détection ne nécessite pas d'amplification du signal ; son utilisation en est donc plus facile, plus rapide et moins parasitée par le bruit de fond.

- Analyse au microscope

La FISH nécessite un microscope à épifluorescence équipé de filtres appropriés aux nombreux fluorochromes disponibles : isothiocyanate de fluorescéine (vert-jaune), rouge Texas, rhodamine (rouge), coumarine (bleu)...). Les molécules émettent une lumière lorsqu'elles sont excitées par une longueur d'onde appropriée. Des filtres sont disponibles avec plusieurs bandes passantes permettant de détecter plusieurs couleurs durant la même observation. L'observation de couleurs difficilement perceptibles par l'œil humain (cyanine, rouge sombre) ou la distinction de combinaisons nombreuses couleurs (Multi-FISH) bénéficient indéniablement de l'avantage des caméras numériques de capture couplées au microscope. Il en est de même des logiciels adaptés au traitement de l'image.

Intérêt de la FISH en cancérologie :

La caractérisation des anomalies fait appel aux mêmes techniques évoquées précédemment. L'étude des anomalies chromosomiques acquises sur tumeurs à largement bénéficiée du développement de la cytogénétique moléculaire, d'une part les aberrations sont souvent nombreuses et complexes, d'autre part les préparations chromosomiques sont parfois de qualités insuffisantes ne permettant pas une analyse complète avec les techniques conventionnelles. Par ailleurs, les hémopathies malignes et certaines tumeurs solides peuvent se caractériser par un remaniement chromosomique spécifique (translocation, inversion) facilement détectable par la FISH. Les anomalies détectées notamment dans les leucémies ont fréquemment un intérêt diagnostique, pronostique et parfois dans le suivi du traitement pour en contrôler l'efficacité. La FISH est un complément précieux du fait de sa précision et de sa facilité. Par ailleurs, du point de vue fondamental, le ou les gènes jouant un rôle dans le processus évolutif de la cancérogenèse peuvent être localisés au niveau des points de cassure des remaniements spécifiques ou récurrents d'un type particulier de tumeurs. La FISH peut aider à la caractérisation de ces gènes (oncogènes, gènes suppresseurs de tumeur) par une première approche fine de localisation

pour aboutir à leur clonage. La complexité des remaniements chromosomiques rencontrés dans les tumeurs hématopoïétiques, et l'intérêt du point de vue fondamental de ces recherches dans le processus de la cancérogenèse ont amené les cytogénéticiens spécialisés dans ce domaine à utiliser de façon intensive les nouveaux outils basés sur le principe de la FISH et qui permettent une étude globale du génome étudié : Multi-FISH, CGH, biopuces à ADN.

La réalisation de la technique FISH sur coupes de tissu nécessite deux étapes : la préparation des solutions et la préparation des lames.

Ø La préparation des solutions : cette étape fait appel à trois types de solutions :

- Le 20XSSC (Sodium chloride, 0,3M sodium citrate, PH5,3),
- Le tampon de lavage post-hybridation (2XSSC /à 3% Np40).
- Les dilutions d'Ethanol.

Ø La préparation des lames : Cette étape est réalisée dans l'ordre suivant :

- Le déparaffinage des lames dans le toluène et l'Ethanol.
- Le prétraitement dans la solution de 1xSSC à 80° et dans l'H₂O.
- Le traitement à la pepsine.
- L'hybridation des échantillons à l'aide de la sonde.
- Les lavages post-hybridation.
- Contre-coloration des noyaux.

v Biologie moléculaire :

Les techniques de biologie moléculaire sont devenues partie intégrante du diagnostic en hématopathologie. La détection d'un réarrangement clonal des gènes codant les immunoglobulines (Ig) ou le récepteur des lymphocytes T (T cell receptor pour TCR) constitue notamment un outil diagnostique de choix dans des cas difficiles où le « diagnostic de malignité » ne peut être porté avec certitude après étude immunomorphologique. Par ailleurs, la détection de certaines aberrations chromosomiques ou génomiques peut non seulement aider au diagnostic de malignité mais aussi constituer

un « marqueur pronostique ». Enfin, beaucoup de ces réarrangements servent de marqueurs moléculaires permettant de détecter la « maladie résiduelle ».

Par définition, l'ensemble des cellules caractérisant une hémopathie maligne dérive d'une seule cellule ayant subi la transformation maligne et le diagnostic doit s'attacher à prouver le caractère homogène des cellules en cause constituant un « clone ». Les techniques utilisées pour mettre en évidence cette clonalité se basent notamment sur la mise en évidence par PCR des réarrangements des gènes des Ig/TCR pour prouver le caractère poly- ou monoclonal d'une lymphoprolifération. En effet, ces réarrangements qui sont d'une grande diversité vont constituer la « carte d'identité » d'un lymphocyte donné.

Les techniques utilisées sont actuellement basées sur l'amplification par PCR (amplification de gène *in vitro*), qui outre sa grande sensibilité, nécessite un ADN de moins grande taille/qualité que la technique antérieurement utilisée de Southern blot et en moins grande quantité. Cela explique que l'on puisse réaliser ces techniques à partir d'un ADN extrait de blocs de paraffine.

Après amplification par PCR, les produits d'amplification sont analysés soit par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, soit par électrophorèse capillaire à haute résolution sur un analyseur de fragments qui présuppose l'utilisation d'amorces fluorescentes.

Intérêt de l'étude de la clonalité lymphoïde en hématopathologie

Lorsque le « diagnostic » de lymphome est difficile après étude immunomorphologique, la mise en évidence par PCR d'un clone lymphoïde est un argument fort en faveur d'un lymphome. Cependant, la clonalité n'est pas toujours synonyme de lymphome et peut être soit associée à un processus lymphoïde dont l'évolution n'est pas maligne comme les papuloses lymphomatoïdes, soit correspondre à l'expansion clonale d'une population lymphoïde réactionnelle à une stimulation antigénique chronique. Une seconde application est d'aider à déterminer le « lignage » B ou T d'une lymphoprolifération, même si des réarrangements « illégitimes » sont décrits, notamment dans des lymphoproliférations immatures, les cellules B et T utilisant le même système de recombinaison des gènes.

Enfin, lors du suivi d'un patient atteint d'un lymphome, la détection d'un clone au diagnostic permet par la suite de suivre la « maladie résiduelle », qui peut notamment se révéler déterminante avant autogreffe de moelle. Dans certaines pathologies lymphoïdes, il est par ailleurs bien établi que la détection d'une maladie résiduelle est prédictive de rechute. Compte tenu du faible nombre de cellules tumorales résiduelles, cette recherche fait appel le plus souvent à des techniques de PCR quantitative, qui peuvent, de plus, être réalisées à l'aide d'amorces spécifiques de la région hypervariable CDR3 du clone initial du patient (Allèle ou patient specific oligonucleotide primer ASO) pour une spécificité de détection maximale.

Détection des anomalies chromosomiques

En complément des techniques de cytogénétique, les techniques de PCR et RT-PCR sont utilisées pour détecter des anomalies chromosomiques telles que les translocations ou inversions qui vont juxtaposer de façon anormale deux séquences nucléotidiques.

Deux types d'anomalies sont accessibles aux techniques de biologie moléculaire. Les premières sont des anomalies « qualitatives » correspondant à la juxtaposition des parties codantes de deux gènes qui conduit à l'expression d'un transcrit de fusion détectable par RT-PCR. Le second type d'anomalie est « quantitative » correspondant à la juxtaposition d'un proto-oncogène et de la séquence régulatrice d'un autre gène (souvent un gène des Ig ou du TCR dans les lymphomes), conduisant à l'expression aberrante de ce proto-oncogène qualitativement normal. Plusieurs translocations de ce type sont associées aux lymphomes car elles procèdent d'erreurs de la recombinaison au moment des réarrangements des gènes des Ig et du TCR. Lors de ce type de translocation, les points de cassure peuvent survenir dans différentes parties du proto-oncogène, expliquant que les amorces utilisées en PCR ne puissent pas couvrir des points de cassure cryptiques mais seulement les régions les plus fréquemment réarrangées du gène. Dans le cas de la translocation t (14 ;18) (q32 ;q21) entre les gènes IgH et Bcl-2 associée aux lymphomes folliculaires, la région de point de cassure la plus fréquemment impliquée au sein du gène Bcl-2 , appelée major breakpoint region (MBR), ne détecte que 70 % des translocations. Dans les cas où la PCR est moins performante, comme dans les lymphomes du manteau caractérisés par la translocation t

(11 ; 14) (11p13 ; 14q32) qui fusionne le gène IgH au gène de la cycline D1 CCND1, où elle n'est détectée que dans 40 % des cas, la technique de FISH doit être préférée à la technique de PCR.

Intérêt de l'analyse moléculaire des anomalies chromosomiques

Comme dans le cas de l'étude des réarrangements des gènes des Ig et du TCR, l'intérêt est, d'une part, « diagnostique », permettant, par exemple, de différencier un lymphome folliculaire caractérisé par la translocation IgH-Bcl-2 d'un lymphome du manteau caractérisé par la translocation IgH-CCND1. L'intérêt est, d'autre part, « pronostique », où la détection de certaines translocations chromosomiques est de mauvais pronostic. Enfin, la détection de ces anomalies chromosomiques permet de détecter la « maladie résiduelle ».

1. Etude analytique

Selon les auteurs Eve Roman et al. [24] et Koichi Ohshima et al. [46], la plupart des patients ayant un LNH de type B ont un âge moyen de plus de 70 ans, alors qu'une minorité est diagnostiquée à l'âge adulte jeune, avec une nette prédominance masculine.

Dans notre travail, l'âge des patients est compris entre 40 et 80 ans avec une moyenne d'âge de 61 ans et un sex-ratio H/F= 3.8 ce qui concorde avec les données de la littérature.

Une comparaison de la fréquence des sous types de LNHB de bas grade diagnostiqués dans notre série avec celle de la littérature est détaillée dans le tableau 8.

Tableau 8: Tableau comparatif de la fréquence des LNHB

Type du lymphome	Notre série	K.Ohshima et al	Leval et al. Blood 1997	OMS-REAL	Richard Delarue	RECRAB 2005
lymphome folliculaire	17.9%	12.1%	22%	22,1%	25%	6,2%
lymphome du manteau	17.9%	5.9%	6%	6%	5 - 7%	
lymphome de la zone marginale ganglionnaire	0%	2.1%	3%	1.8%		
lymphome lymphoplasmocytaire	0%	3,4%		1,2%		
LLC	53.6%	0.6%	8%	6.7%		
Lymphome malin non-hodgkinien, SAI*	10.7%					9.4%

* sans autres informations

1.1. La leucémie lymphoïde chronique /lymphome lymphocytaire (LLC)

a. Epidémiologie/clinique :

En matière de leucémie lymphoïde chronique, le ratio homme/femme est de 2/1 et le pic de fréquence se situe vers l'âge de 65 ans. La LLC est exceptionnelle avant 40 ans, touche un patient de plus de 50 ans dans 90 % des cas et de plus de 60 ans dans 66 %.

C'est la leucémie chronique la plus fréquente dans les pays occidentaux, son incidence est évaluée à 3,5 nouveaux cas pour 100 000 personnes aux États-Unis [47]. Elle est plus rare en Extrême-Orient [48].

Il semble exister une prédisposition familiale avec un risque multiplié par trois si un membre de la fratrie est atteint [49]. Il ne semble pas avoir de facteurs environnementaux déclenchants à l'exception de l'exposition à un défoliant, l'agent orange [48]. De même, le rôle potentialisateur d'une irradiation reste controversé [50]. Des infections répétées, en particulier pulmonaires, semblent cependant représenter un facteur de risque de la maladie, probablement en raison d'une stimulation itérative du système immunitaire [51].

Une transformation en lymphome B diffus à grandes cellules (syndrome de Richter) ou la survenue d'un second cancer s'observe dans environ 10 % des cas [11,32].

Dans notre série, le lymphome lymphocytaire a représenté 53.6%. Il a survécu particulièrement après l'âge de 47 ans, ce qui est concordant avec la littérature.

L'infiltration médullaire est notée dans 17.6% des cas seulement. Le syndrome de Richter est enregistré dans un seul cas (5.9%) avec conversion en maladie de Hodgkin. Les chiffres atteints sont inférieurs à ceux de la littérature.

b. Morphologie :

Sur le plan morphologique, ces proliférations sont principalement constituées de lymphocytes de morphologie banale, avec des noyaux ronds à chromatine dense. Cependant, il existe toujours des zones plus claires, faites de cellules de plus grande taille : les prolymphocytes et para-immunoblastes (Figure 15) [11,52].

Dans notre série, il s'agit le plus souvent d'une prolifération lymphoïde monotone à petites cellules.

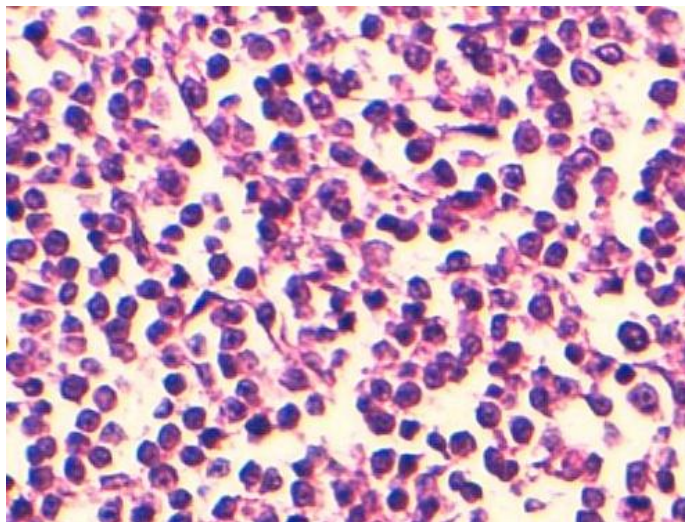


Figure 15 : Leucémie lymphoïde chronique : prolifération monotone principalement constituée de lymphocytes de morphologie banale avec des noyaux ronds à chromatine dense (coloration par l'hémalun-éosinex20).

c. Immunophénotype:

Les lymphocytes tumoraux expriment plusieurs antigènes B (CD19, CD20, CD79a). L'expression du CD5 qui est un antigène T est l'une des particularités de ces cellules, qui sont également positives pour les anticorps anti-CD23 et anti-CD43. En pratique, la détection du CD23 peut être utile pour différencier ces proliférations de certains lymphomes développés à partir des cellules du manteau (négatives pour le CD23). Dans les lymphomes lymphocytiques, moins de 5 % des cellules sont en cycle et marquées par l'anticorps MIB1 (équivalent de Ki67). Des IgM de surface monotypiques (κ ou λ) sont présentes [11, 53, 54].

Dans notre série l'anticorps anti-CD 20 est exprimé dans 12 cas, son marquage est souvent fort, plus vif au sein des centres de proliférations. Le CD23 a été exprimé dans tous les cas (15 cas) et le CD5 a été positif dans 13 cas seulement. Nos données rejoignent celles de la littérature. Le Ki67 n'était pas réalisé vu le caractère monotone de la prolifération et la petite taille des cellules.

d. Génotype :

Sur le plan cytogénétique, les gènes des chaînes lourdes et légères des Ig sont réarrangés de manière variable, puisque dans les formes sans mutation somatique, les réarrangements sont observés dans 40 % à 50 % des cas, contre 60 % dans les formes avec

mutations somatiques. Une trisomie 12 a été rapportée dans environ un tiers des cas et une délétion(13)(q14.3) dans 50 % des cas. D'autres anomalies, portant sur les chromosomes 11, 13 et 17, ont été décrites [11,54].

1.2. Le lymphome à cellules du manteau (LCM)

a. Epidémiologie/clinique :

Dans une récente enquête épidémiologique effectuée aux États-Unis [55], le lymphome du manteau représente environ 5 % des LNH. Son incidence est estimée entre 0,07 et trois cas pour 100 000 habitants par an. Il s'observe surtout chez les sujets âgés (68 ans), avec une nette prédominance chez les hommes. Des localisations multiples sont habituellement présentes lors du diagnostic (ganglions, rate, anneau de Waldeyer, sang, moelle, intestin) [56, 57]. Les lymphomes développés à partir des cellules du manteau sont modérément agressifs mais incurables avec les traitements actuellement disponibles. La survie médiane est de trois à cinq ans [11, 58].

Dans notre étude, l'âge de nos patients variait entre 54 et 66 ans avec un sex-ratio (hommes/femmes) de 4 (4hommes et une femme) ce qui rejoint les données de la littérature.

b. Morphologie

Les LCM comportent des cellules petites ou moyennes à noyau irrégulier, typiquement encoché ou clivé, avec une chromatine plus fine que celle des lymphocytes normaux, au sein de laquelle on distingue un nucléole de petite taille. Le cytoplasme est réduit et peu visible (Figure 16). Par définition, ces proliférations ne renferment pas de lymphocytes activés à cytoplasme basophile (centroblastes ou immunoblastes). Des histiocytes à cytoplasme abondant sont souvent dispersés dans la prolifération, donnant un aspect en « ciel étoilé ». La plupart de ces tumeurs sont d'architecture diffuse, mais l'architecture nodulaire peut être observée [11, 56, 58].

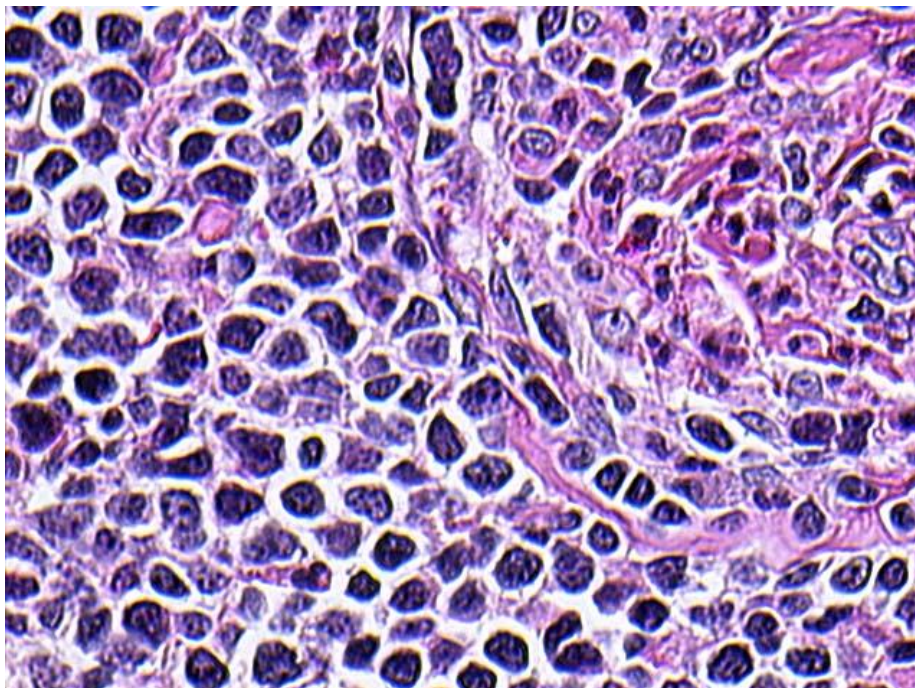


Figure 16 : Lymphome du manteau : les cellules sont de petite taille, aux noyaux irréguliers et d'aspect encoché et souvent nucléolé. Le cytoplasme est réduit (Hesx40).

c.Immunophénotype

Les lymphomes du manteau présentent des IgS monotypiques et plusieurs antigènes B (CD19, CD20, CD22, CD79a). Comme dans la LLC, les cellules expriment les antigènes CD5 et CD43, mais sont dépourvues des antigènes CD23 et CD10. Une autre caractéristique des lymphomes du manteau est la présence de volumineux réseaux de cellules folliculaires dendritiques mis en évidence par plusieurs anticorps (CNA.42, CD21). La cycline D1 constitue un bon marqueur de ces lymphomes (Figure 17) [11, 56, 58].

Dans notre série, le CD20 et le CD5 étaient positifs dans tous les cas des LCM (5). La cycline D est l'anticorps qui permet de poser le diagnostic de certitude dans le lymphome du manteau, mais elle n'était positive que dans 4 cas.

Le CD10 est réalisé afin d'éliminer un lymphome folliculaire. Cet anticorps n'était réalisé que chez 2 patients chez qui il était négatif. Le BCL2 était réalisé et positif chez 2 patients.

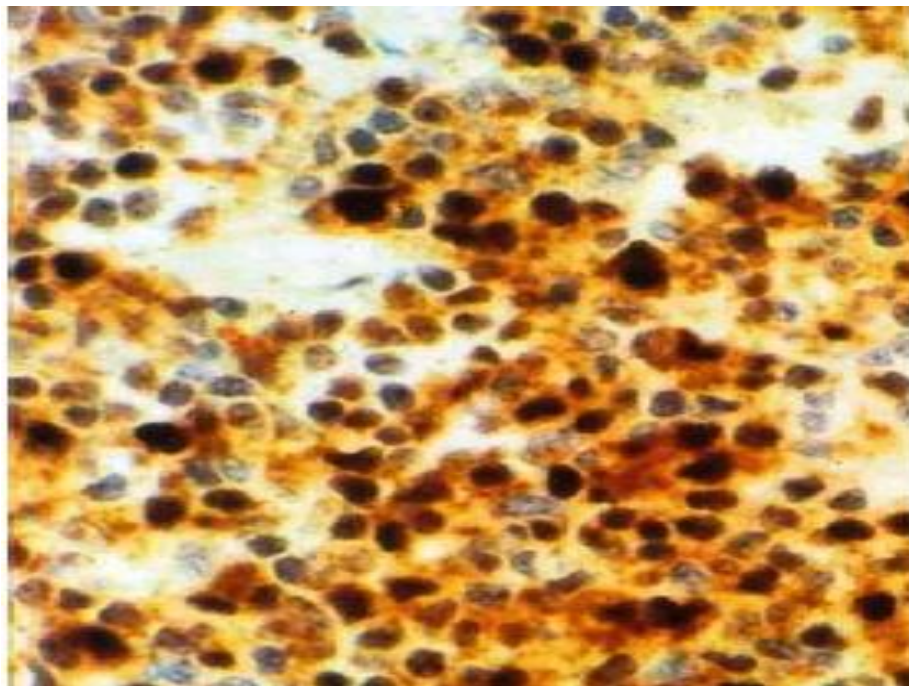


Figure 17 : Expression de la cycline D1 (protéine BCL-1) par les cellules lymphomateuses dans un LCM. Les cellules négatives correspondent à des éléments lymphoïdes résiduels non néoplasiques.

d. Génotype

Juxtapose le locus cycline-D1 sur le chromosome 11 et le locus des chaînes lourdes Ig sur le chromosome 14. Elle provoque une surexpression du gène de la cycline D1. Dans la plupart des cas, les régions variables des Ig sont non mutées, dans 10 % à 15 % des cas, il existe des mutations somatiques (Figure 18) [59, 60, 61, 62].

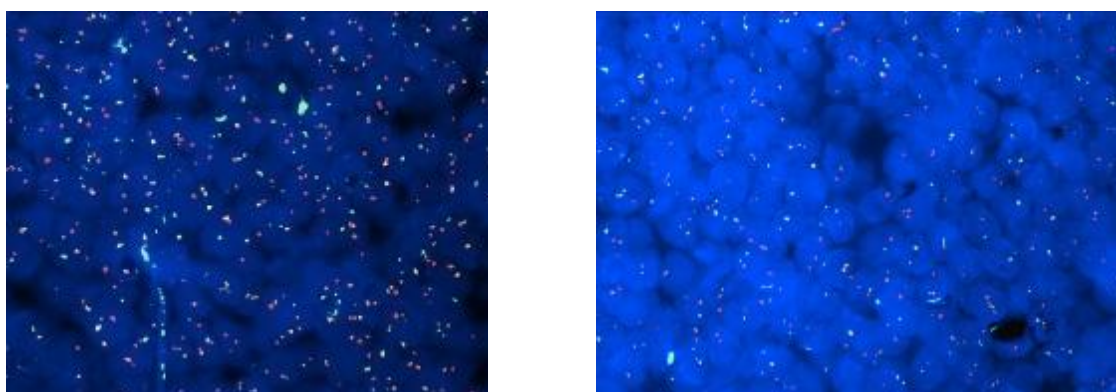


Figure 18 : Hybridation in situ fluorescente (FISH) dans un LCM:

A gauche : réarrangement caractéristique observé dans la $t(11;14) (q13;q32)$. Le gène CCND1 présent sur le chromosome 11 est coloré en rouge et le gène IGH sur le chromosome 14 est en vert.

A droite : en orange la fusion entre les deux signaux.

1.3. Le lymphome folliculaire (LF)

Le terme de lymphome folliculaire se rattache à l'architecture de ces tumeurs et à leur origine (les follicules lymphoïdes).

a. Epidémiologie/clinique

Les lymphomes folliculaires affectent avec une fréquence comparable les hommes et les femmes. Ils représentent 30 % à 40 % des LNH. Selon Eve Roman et al. [24], l'âge médian du diagnostic était de 65 ans. La majorité des patients présentent des localisations multiples lors du diagnostic (ganglions, rate et moelle osseuse). Ces tumeurs sont d'évolution lente, mais en général incurables avec les traitements actuels. Une progression vers un lymphome B diffus à grandes cellules peut s'observer.

Il y a des formes dites « in situ » qui sont souvent de découverte fortuite dans des ganglions d'architecture sensiblement normale [11, 24, 63].

Dans notre série, le lymphome folliculaire a représenté 29.5%. Cette fréquence est proche de celle décrite dans la littérature. L'âge médian était de 58 ans. Tous les patients de notre étude avaient des localisations multiples au moment du diagnostic notamment l'association d'une splénomégalie ce qui est concordant avec la littérature.

b. Morphologie

L'architecture en général folliculaire de ces lymphomes (Figure 19) est due à la présence de réseaux de cellules folliculaires dendritiques comparables aux réseaux des follicules lymphoïdes normaux. Les follicules lymphomateux sont constitués par une population prédominante de centrocytes identifiables par leur noyau encoché et anguleux associés à quelques centroblastes à noyau rond, nucléolé, et à cytoplasme basophile (Figure 20). Selon la proportion de centrocytes et de centroblastes, on distingue des lymphomes folliculaires de grade 1 (0-5 centroblastes/grand champ) (Figure 21), de grade 2 (6-15 centroblastes/gc) (Figure 22), grade 3 (Figure 23) (> 15 centroblastes/gc : 3A [centrocytes présents], 3B [centroblastes uniquement]). Ces grades ont probablement un intérêt pronostique : les lymphomes folliculaires de grade 3B sont considérés comme des lymphomes B diffus à grandes cellules [64].

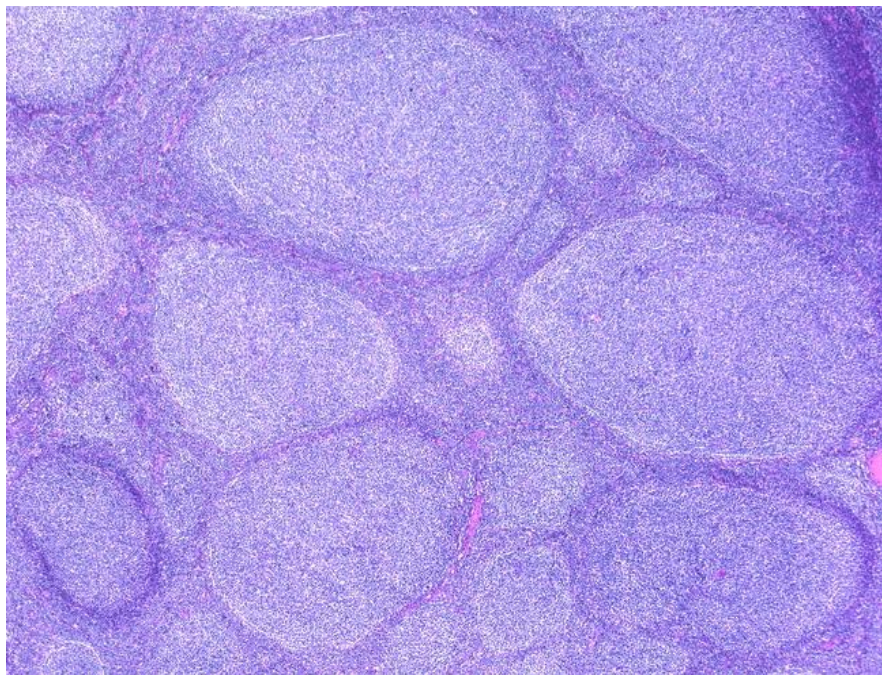


Figure 19 : Lymphome folliculaire sur une coupe tissulaire préparée pour un examen histopathologique conventionnel montrant des follicules de taille variable.

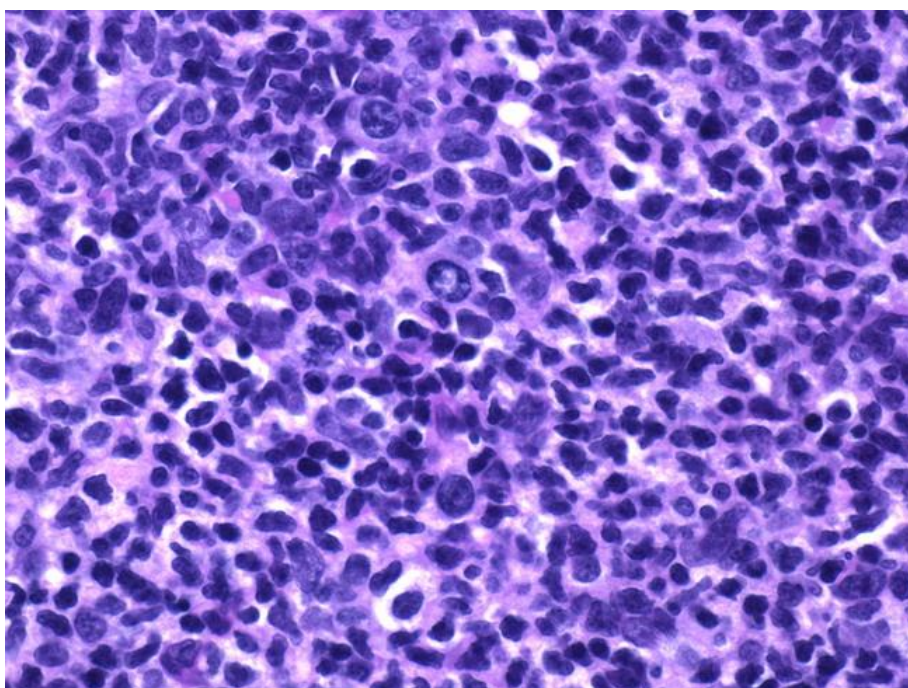


Figure 20 : Examen au fort grossissement d'un follicule lymphomateux comportant un mélange de centrocytes et de centroblastes associés à des cellules folliculaires dendritiques.

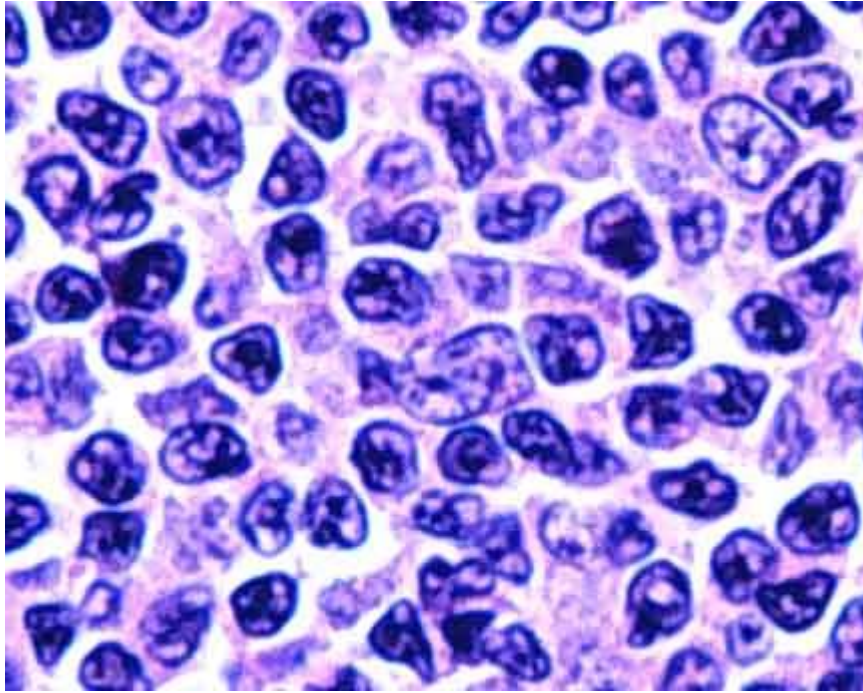


Figure 21 : LF grade 1 : présence surtout de centrocytes avec présence d'un seul centroblaste au centre.

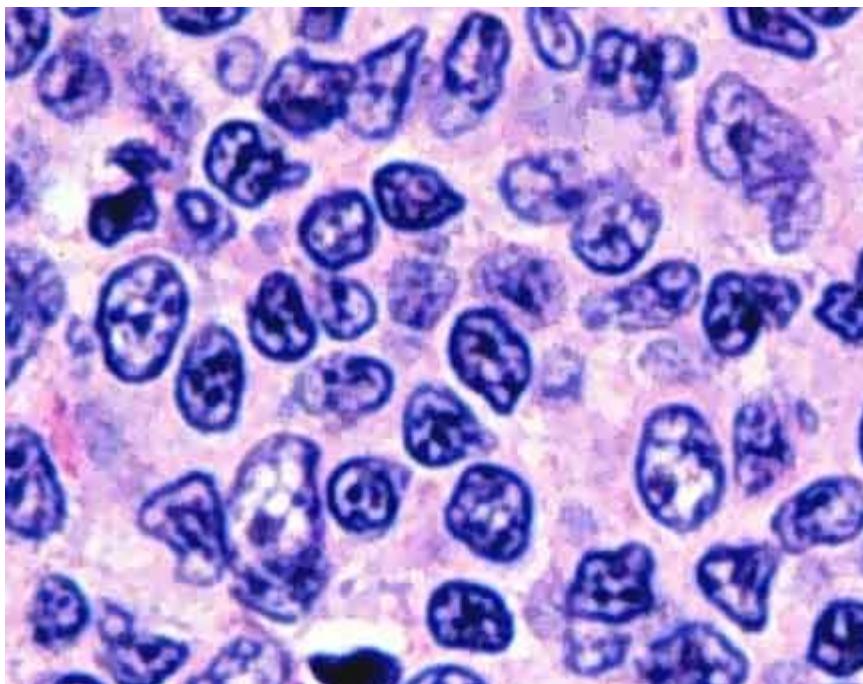


Figure 22 : LF grade 2 : présence de plus de grandes cellules (centroblastes) que l'image précédente

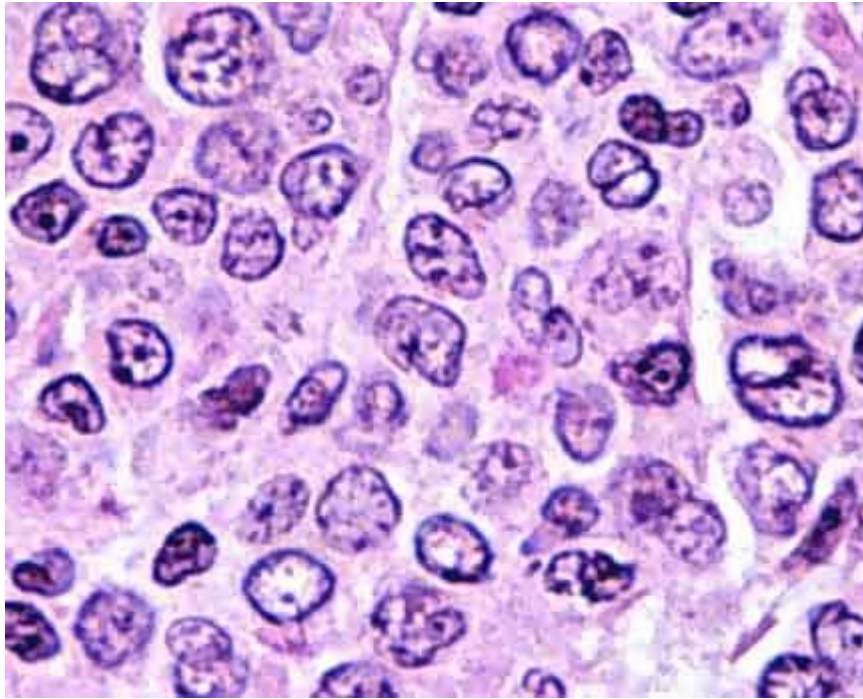


Figure 23 : LF grade 3 : prédominance de cellules de grande taille. Il peut s'agir de cellules non clivées : centroblastes avec des nucléoles accolés à la membrane nucléaire ou de cellules clivées : immunoblastes ayant un nucléole proéminent central

c. Immunophénotype

Les lymphomes folliculaires présentent des Ig de surface monotypiques et plusieurs antigènes B (CD19, CD20, CD22, CD79a, BCL-6). Contrairement aux lymphomes à cellules du manteau, ils expriment l'antigène CD10 et sont dépourvus de l'antigène CD5. Une autre particularité des lymphomes folliculaires est la présence de l'oncoprotéine BCL-2, qui confère aux cellules lymphomateuses un avantage de survie en les protégeant contre l'apoptose. Plus de 85 % des lymphomes folliculaires expriment la protéine BCL-2 (Figure 24), alors qu'elle est absente dans les follicules réactionnels [11, 64].

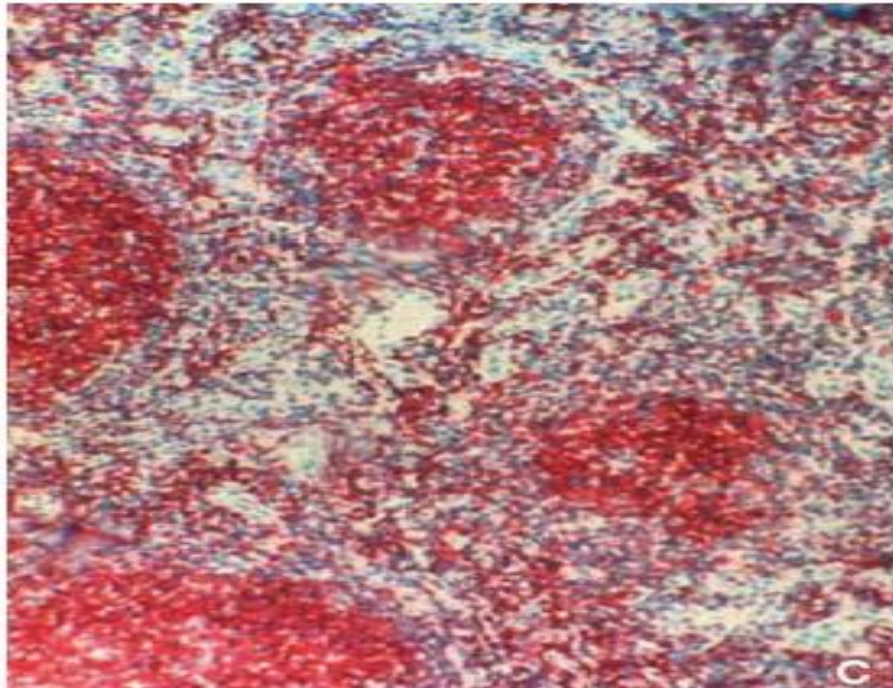


Figure 24: Immunoréactivité des cellules lymphomateuses avec l'anticorps anti-BCL-2. Les centres germinatifs des follicules réactionnels n'expriment jamais l'oncoprotéine BCL-2.

Coupe à congélation avec révélation en technique APAAP (phosphatase alcaline).

Dans notre série, les cellules tumorales ont exprimé le CD20 et le CD23 chez 4 patients, le bcl2 chez tous les patients, le CD10 qui n'était réalisé que chez 3 patients n'était exprimé que dans 2 cas. Le BCL6 est exprimé dans 3 cas. Le CD 5 était négatif chez tous les patients ce qui rejoint les données de la littérature.

d. Génotype

Les lymphomes folliculaires se caractérisent dans 70 % à 90 % des cas par la translocation chromosomique t(14;18) (q32;q21), qui place le proto-oncogène BCL-2 situé en 18q21 en 14q32 sous le contrôle du gène de la chaîne lourde des immunoglobulines (Figure 25). Ceci entraîne une surexpression de la protéine BCL-2 [64, 65, 66, 67].

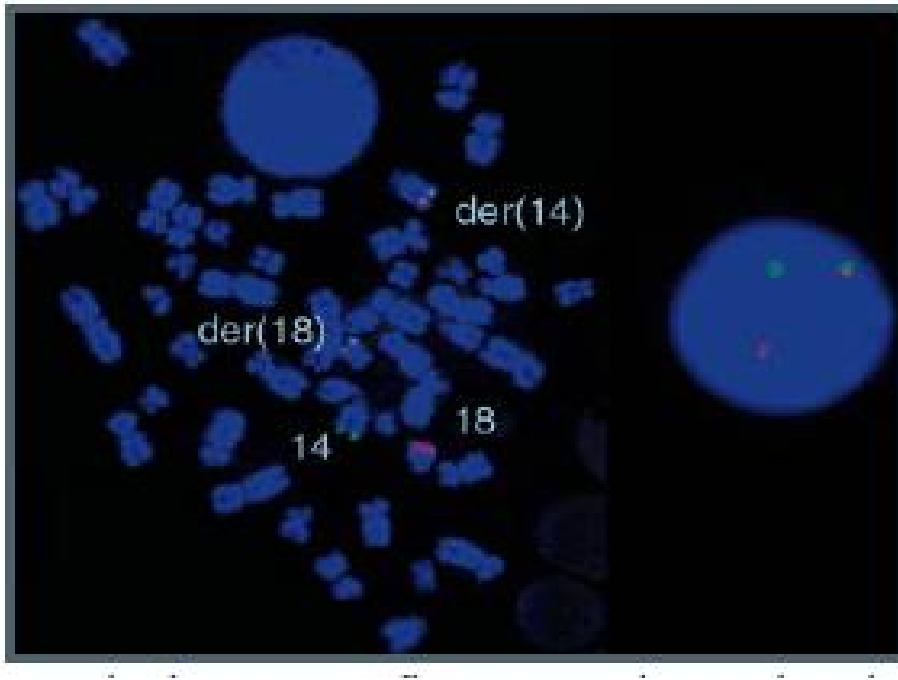


Figure 25 : Hybridation in situ fluorescente dans un lymphome folliculaire: réarrangement caractéristique observé dans la t(14;18) (q32;q21). Le gène BCL-2 présent sur le chromosome 18 est coloré en rouge et le gène JH des immunoglobulines sur le chromosome 14 en vert. En orange, la fusion entre les deux signaux, comme le montre le noyau isolé.

Un réarrangement impliquant un autre gène, BCL-6, a été décrit dans 13 % des lymphomes folliculaires, mais il ne semble avoir aucune influence sur le pronostic de ces tumeurs. Par ailleurs, des délétions des chromosomes 7, 18, 6q et 17p ont été rapportées [64, 65, 66, 67].

1.4. Le lymphome de la zone marginale (LZM)

a. Epidémiologie/clinique

Les LZM représentent entre 5 et 17% des lymphomes non hodgkiniens chez l'adulte [68-69]. De 50 à 70% de ces lymphomes sont des LZM de type MALT. 10% seulement sont des lymphomes ganglionnaires. La plus part des cas surviennent chez des patients de plus de 60 ans avec une prédominance masculine [70, 71]. De plus en plus d'arguments indiquent que les LZM peuvent être associés à une stimulation antigénique chronique de type endogène par auto-anticorps, ou de type exogène par des pathogènes microbiens conduisant à une accumulation du tissu lymphoïde dans des sites typiques d'envahissement par ce lymphome, ganglions, ou dans des organes ne comportant habituellement pas de tissu lymphoïde.

Ce lymphome peut également être associé au virus de l'hépatite C [72-73]. L'identification de ces agents infectieux susceptibles d'induire une stimulation antigénique chronique et une transformation indirecte des cellules lymphoïdes est intéressante en particulier à cause des implications thérapeutiques qui en découlent [74]. L'aspect est celui d'une infiltration péri et inter-folliculaire, plus ou moins associée à une colonisation folliculaire, ces lymphomes peuvent être confondus avec des centres germinatifs en transformation progressive [4].

Les cellules sont pan-B+, CD43+, BCL-2+ et CD10-, BCL-6-, cycline D1-, IgD-.

Dans notre série, le lymphome de la zone marginale a représenté uniquement 3.6%, Il a été rapporté chez un seul patient âgé de 62 ans. Ce qui rejoint les données de la littérature.

Le profil immunohistochimique a montré une positivité pour le CD20. Le CD3, le CD5, le CD10, le CD23 et la cycline D1 étaient négatifs.

b. Morphologie

L'infiltration se présente comme une nappe diffuse, souvent vaguement nodulaire, de cellules non ou peu cohésives de taille petite à moyenne, dont les irrégularités nucléaires sont souvent peu visibles, en particulier sur empreintes, et toujours moins marquées que

sur coupes. (Figure 26). D'après une étude récente portant sur 304 cas, le type cytologique (85 % de formes classiques) n'a pas d'influence pronostique statistiquement significative, bien que les survivants à long terme appartiennent uniquement aux formes classiques ou à petites cellules. Le degré de prolifération cellulaire évalué par le nombre de mitoses ou l'index de marquage au Ki-67 ou au MIB1 a une signification pronostique statistiquement significative.

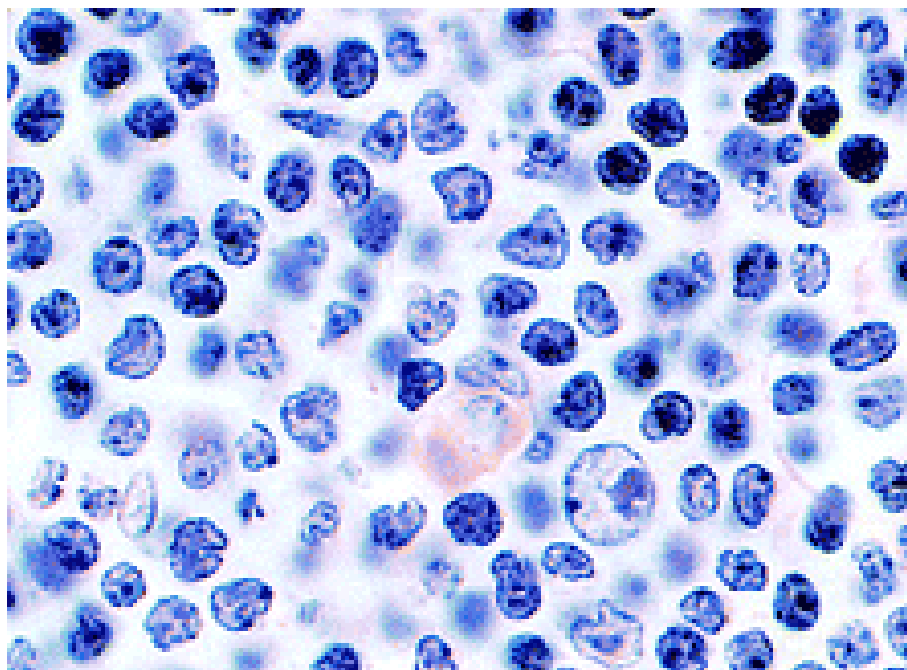


Figure 26 : LZM ganglionnaire fait de cellules monocytoïdes centrocyte-like, de taille 2 à 3 fois plus grande que celle d'un lymphocyte normal. Les noyaux sont ronds irréguliers et nucléolés, entourés par un cytoplasme pâle peu abondant.

c. Immunophénotype

Les cellules lymphomateuses expriment les antigènes B (CD19, CD20, CD22, CD79a) (Figure 27) et des Ig de surface. Des Ig cytoplasmiques sont détectées dans environ 40 % des cas. En revanche, les antigènes CD5, CD10, CD23 sont absents. L'expression des antigènes CD11c et CD43 est plus variable. Ce phénotype permet de différencier ces tumeurs des autres lymphomes B à petites cellules : LLC-B et lymphome du manteau (CD5+), lymphome centro-folliculaire (CD10+)

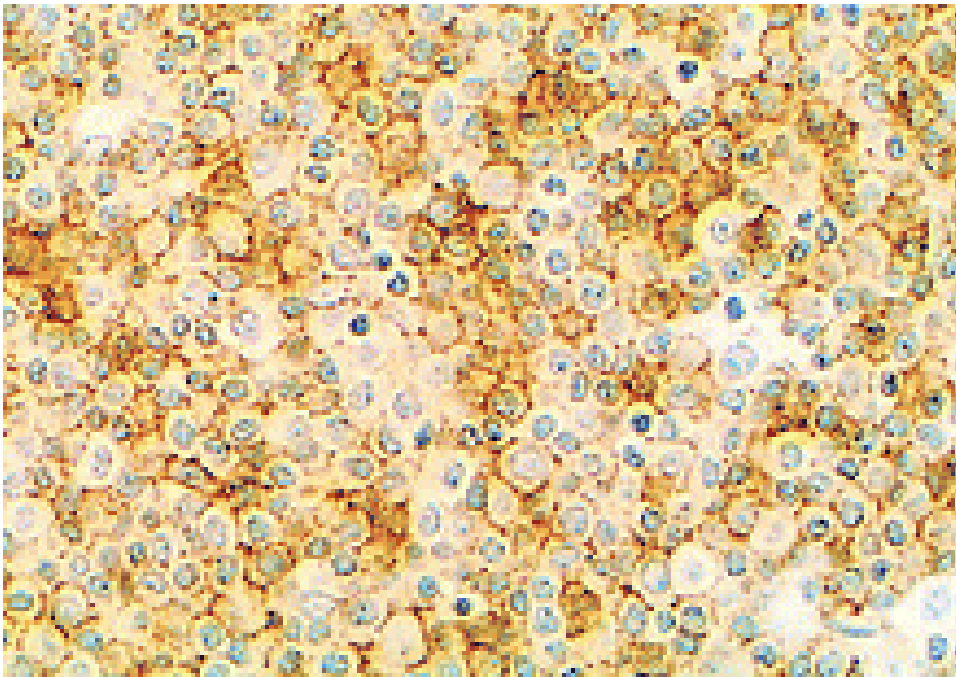


Figure 27 : Marquage par le CD20 dans un LZM ganglionnaire : Les cellules lymphomateuses sont fortement positives pour ce marqueur et montrent des aspects monocytoïdes.

d. Génotype

Des anomalies clonales peuvent être mises en évidence dans la très grande majorité des cas, les plus fréquentes étant représentées par les délétions en 7q, la trisomie 3 ou 3q, la trisomie 18 ou 18q et la trisomie 12 ou 12q ; la trisomie 3, trisomie 18 et délétions en 7q représentent des arguments discriminants en faveur du diagnostic de LZM, en dehors d'une association à une translocation t(11 ;14) ou t(14 ;18), de même que leur association entre elles, en particulier +3/+18, +3/del7q, +3/+12 [7]. La signification pronostique de la trisomie 3 ou de la délétion en 7q reste controversée [75, 76, 77].

1.5. Le lymphome lymphoplasmocytaire (LLP)

a. Epidémiologie/clinique

Ces proliférations, d'évolution lente, surviennent chez des sujets âgés, qui se présentent avec des adénopathies, une infiltration médullaire et une splénomégalie. Des localisations extra-ganglionnaires (tissus mous, peau, orbite) sont possibles. Une IgM monoclonale sérique, avec possible syndrome d'hyperviscosité, est notée dans la majorité des cas. Ces lymphomes ne sont pas curables avec les traitements actuels. Une transformation en lymphome B diffus à grandes cellules peut survenir [11,78].

b. Morphologie

Ces tumeurs réalisent des proliférations diffuses faites de lymphocytes de morphologie banale ou avec différenciation plasmocytaire (Figure 28). Ces lymphomes doivent être distingués d'autres variétés (lymphome de la zone marginale, lymphome folliculaire) qui peuvent présenter une différenciation plasmocytaire.

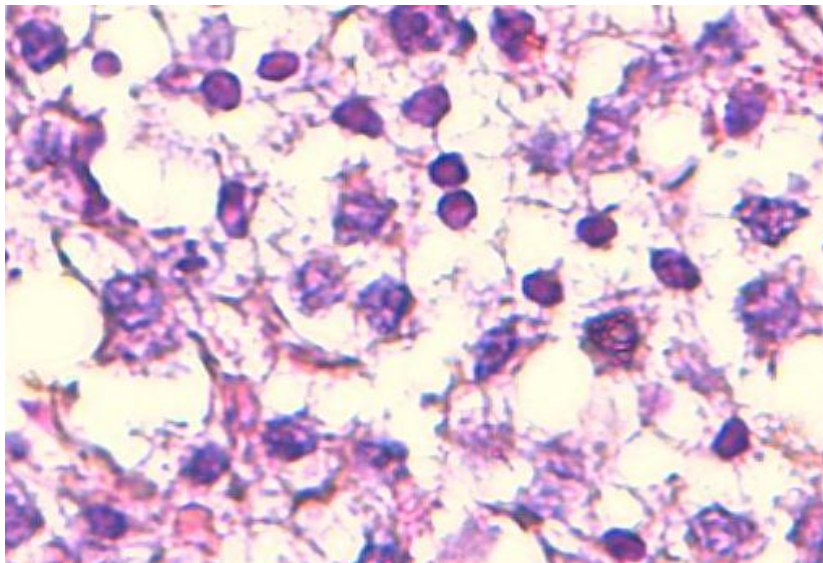


Figure 28 : Aspect morphologique d'un lymphome lymphoplasmocytaire. Cette prolifération se présente avec un mélange de lymphocytes de petite taille et de plasmocytes matures (Hesx40).

c. Immunophénotype

Les cellules expriment plusieurs antigènes B (CD19, CD20, CD22, CD79a) (Figure 29), des IgM de surface et des Ig cytoplasmiques monotypiques (k ou λ). Contrairement aux LLC, elles sont dépourvues de l'antigène CD5. Les cellules tumorales ont une forte différenciation plasmocytaire avec possibilité de perte d'expression de l'antigène CD20. Les immunoglobulines intracellulaires ont un intérêt majeur pour affirmer la monotypie.

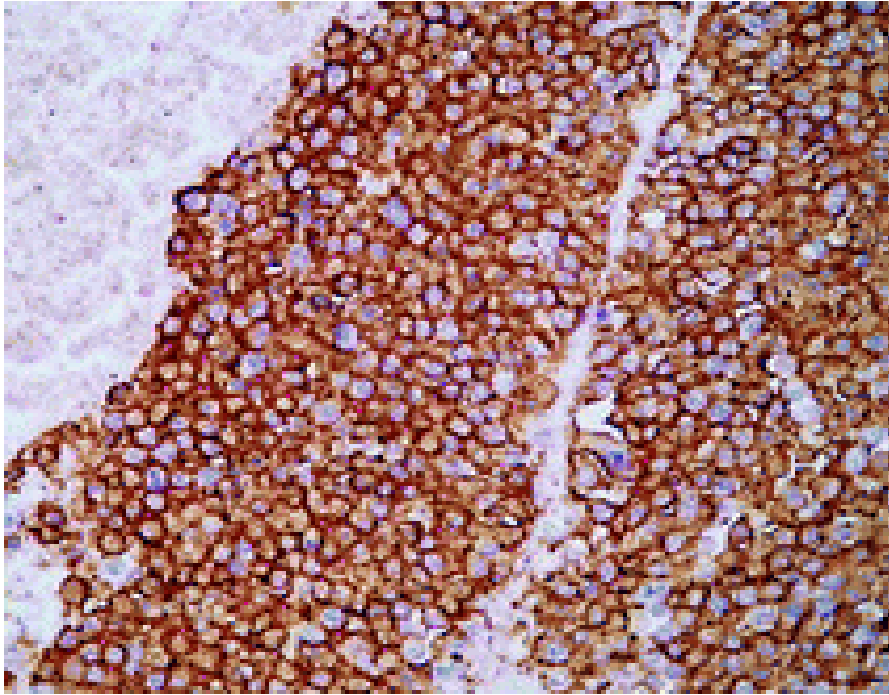


Figure 29 : Immunomarquage par le CD20 au cours d'un LLP montrant une positivité forte et diffuse des cellules tumorales

d. Génotype

En dehors d'un réarrangement clonal des gènes des chaînes lourdes et légères des Ig avec des mutations somatiques, il n'existe pas d'anomalie cytogénétique caractéristique de ces lymphomes.

VI. FACTEURS PRONOSTICS

Les LNH B de bas grade correspondent à des entités indolentes et lentement évolutives en dehors du lymphome du manteau. Elles sont marquées par des phases de stagnation voir d'involution spontanée. L'index mitotique et le pourcentage de cellules cinétiquement actives sont des indications utiles de l'agressivité tumorale.

Chaque entité possède un pronostic qui lui est propre [79] :

1. Le lymphome lymphocytaire/LLC :

Le pronostic de la leucémie lymphoïde chronique est extrêmement variable suivant les patients. Des classifications pronostics ont été développées pour adapter le traitement au rythme évolutif de la maladie. Celles les plus fréquemment utilisées sont la classification de Rai (tableau 9) aux États-Unis et la classification de Binet en Europe (tableau 10) [80].

Tableau 9 : classification de Binet

Stades	Pronostic	Critères de définition	Répartition des LLC en %	survie médiane (en mois)
Stade A	Bon pronostic	Lymphocytose, taux d'hémoglobine > 100 g/l et numération des plaquettes > 100 G/l, moins de trois aires ganglionnaires atteintes	63 %	> 120
Stade B	Pronostic intermédiaire	Lymphocytose, taux d'hémoglobine > 100 g/l et numération des plaquettes > 100 G/l, plus de trois aires ganglionnaires atteintes	30 %	70
Stade C	Mauvais pronostic	Lymphocytose, taux d'hémoglobine < 100 g/l ou numération des plaquettes < 100 G/l, quel que soit le nombre d'aires lymphoïdes atteintes	7 %	40

aires lymphoïdes peuvent être les aires cervicales, axillaires, inguinales (qu'elles soient unilatérales ou bilatérales), la rate ou le foie. Ces anomalies étant déterminées par la palpation lors de l'examen clinique. Cette classification est suffisamment précise pour caractériser les formes graves. En revanche, il est nécessaire de déterminer de nouveaux marqueurs biologiques pour mieux connaître le pronostic des LLC de stade A. Certains paramètres biologiques ont une valeur pronostic péjorative comme :

- Un temps de doublement du nombre de lymphocytes circulants inférieur à 12 mois,
- Un taux sérique des LDH élevé,

- Un taux sérique de $\beta 2$ microglobulines élevé.

Tableau 10 : classification de RAI

Stades	Critères de définition	Pronostic	survie médiane (en mois)
Stade 0	Lymphocytose sanguine $> 5.10^9/L$ et médullaire isolées sans adénopathies ni splénomégalie	Bon pronostic	> 120
stade I	Stade 0 (hyperleucocytose) et adénopathies sans splénomégalie ni hépatomégalie	pronostic	> 100
Stade II	Stade 0 et splénomégalie et/ou adénopathies et/ou hépatomégalie	intermédiaire	70
Stade III	Stade 0 et anémie (hémoglobine $< 11g/dl$) qu'il y ait ou non adénopathies ou splénomégalie ou hépatomégalie	Mauvais pronostic	24
Stade IV	Stade 0 et thrombopénie (Plaquettes $< 100 000/mm^3$) qu'il y ait ou non adénopathies ou splénomégalie ou hépatomégalie		

2. Le lymphome folliculaire :

Le pronostic des lymphomes folliculaires s'est beaucoup amélioré cette dernière décennie par la meilleure compréhension de ce lymphome et l'arrivée de nouvelles thérapeutiques.

En 2004, a été proposé l'indice pronostic international des lymphomes folliculaires FLIPI qui repose sur 5 critères : l'âge (supérieur à 60 ans versus inférieur à 60 ans), le stade ANN-ARBOR (I-II, III-IV), le taux de la lactico-déshydrogénase (LDH) (normal versus

augmenté), le taux d'hémoglobine (<12g/l versus >12g/l) et le nombre des sites ganglionnaires (<4 versus >5 sites). Sur les 1795 dossiers analysés, la survie à 10 ans est de 71% pour les scores 0-1, 51% pour les scores 2 et 30% pour les scores supérieurs ou égaux à 3.

Un score FLIPI supérieur à 3 semble être un facteur raisonnable de la mise en route du traitement [81].

Le microenvironnement tumoral paraît particulièrement important : par immunohistochimie ou par micro-array sur tissu tumoral [82], la présence de cellules macrophagiques ou dendritiques apparaît de mauvais pronostic. En revanche, la surexpression de gènes exprimés dans les lymphocytes T apparaît de bon pronostic.

3. Le lymphome du manteau :

Il n'existe pas actuellement d'index pronostique prédictif de la survie. De nombreux facteurs pronostiques ont été décrits à partir de données rétrospectives et rendent probablement compte de l'hétérogénéité des LCM : le type histologique (les formes blastiques étant de plus mauvais pronostic que les formes communes avec des médianes de survie respectivement de 14 mois et 53 mois), l'index de prolifération (Ki67), l'expression nucléaire de la survivine, l'expression de l'inhibiteur de kinase cycline dépendante p27, ou encore de p53 [83,84–85].

Un profil d'expression de gènes de prolifération semble également influencer la survie des patients [45,52]. Récemment, un nouveau score spécifiquement adapté aux LCM (MIPI) a été proposé. Fondé sur quatre paramètres (l'âge, la performance status, le taux de LDH et le taux de leucocytes). Le score MIPI permet d'individualiser quatre groupes de patients avec des profils d'évolution différents [86]. Le MIPI est en cours de validation sur d'autres séries de patients et les résultats semblent parfois discordants.

4. Le lymphome de la zone marginale :

Des facteurs pronostiques de survie ont été identifiés. L'intergroupe italien des lymphomes a proposé un modèle pronostique élaboré dans une série de 309 patients, fondé sur 3 facteurs (LDH, hémoglobine, albumine). Il permet de séparer les patients en 3 groupes dont la survie à 5 ans est très différente : 88% dans le groupe à faible risque (0 facteur), 73% dans le groupe intermédiaire (1 facteur) et 50% dans le groupe à risque élevé (plus d'un facteur). D'autres facteurs pronostiques biologiques ont été également rapportés, fondés sur l'analyse du transcriptome : l'expression de CD38, l'absence de mutation des gènes des Ig et l'expression de gènes activés NFkB ont une valeur péjorative pour la survie [87].

5. Autres facteurs pronostics communs à tous les sous-types:

5.1. Facteurs pronostics liés au patient:

a. L'âge

L'un des facteurs pronostics le plus important des LNH d'après Lichtman SM et al est l'âge du patient lors du diagnostic. Plus le patient est âgé, plus le lymphome est agressif, quelque soit les autres facteurs pronostics et les traitements utilisés. La barrière entre bon et mauvais pronostic se situe entre 55 et 65 ans. Il a été choisi de retenir sur le plan international l'âge de 60 ans. La raison exacte du pronostic péjoratif chez les patients âgés n'est pas connue [88].

b. L'altération de l'état général et les signes généraux :

La présence d'une altération de l'état général est un reflet de la relation malade/tumeur et témoigne d'un pronostic péjoratif. La présence des symptômes cités ci-dessous est également un reflet de cette relation [23, 89].

- Fièvre : > 38° C pendant > 1 semaine.
- Amaigrissement > 10% dans les 6 mois précédents.
- Sueurs nocturnes obligeant le malade à se changer.

5.2. Les facteurs pronostics liés à la masse tumorale:

a. Le stade d'extension de la maladie

Il a une grande valeur pronostique et reste l'un des paramètres principaux de l'adaptation du traitement. Ce stade est défini dans les LNH selon la classification d'Ann Arbor (Tableau 11) en quatre catégories, allant de stade localisé (I) au stade disséminé (IV). Cette classification a été établie en fonction du nombre des aires ganglionnaires atteintes et leur localisation par rapport au diaphragme, ainsi que la présence ou non d'atteinte extra-ganglionnaire d'origine hématogène. Le stade est complété par l'apposition de sigles correspondant à la présence ou non de signes généraux d'évolution, d'une masse ganglionnaire bulky, d'une atteinte extra-ganglionnaire de contiguïté ou d'un syndrome inflammatoire [19, 89, 90, 91].

Le pronostic des formes localisées est globalement meilleur que celui des formes étendues.

Tableau 11: Classification d'Ann. Arbor modifiée [19]

Stade	Extension de la maladie
Stade I	Atteinte d'une seule aire ganglionnaire (I) ou d'une seule localisation lymphoïde extra-ganglionnaire (rate, thymus, Waldeyer) (IE).
Stade II	atteinte de deux ou plusieurs aires ganglionnaires d'un même côté du diaphragme (II) ou atteinte extra-ganglionnaire contiguë à une ou plusieurs localisations ganglionnaires d'un même côté du diaphragme (IIE).
Stade III	Atteinte de plusieurs aires ganglionnaires de part et d'autre du diaphragme (III) qui peut être associée à une localisation splénique (IIIS), à une localisation extra-ganglionnaire contiguë (IIIE) ou aux deux (IIIE+S)
Stade IV	Atteinte d'un ou plusieurs viscères, non contiguë à l'atteinte ganglionnaire ;
Sigle	Classification clinico-biologique
A	Absence de signes cliniques d'évolutivité
a	Présence d'au moins un des signes cliniques d'évolutivité
B	Absence de syndrome inflammatoire
b	Présence d'un syndrome inflammatoire
X	Présence d'une masse bulky
E	Présence d'une atteinte viscérale de contiguïté

b. Les paramètres biologiques

Trois paramètres biologiques sont reliés à la grande masse tumorale [23, 89, 90]:

- La $\beta 2$ microglobuline sérique: un taux supérieur à 3mg/l est le témoin d'une masse tumorale importante, localisée ou disséminée.
- La LDH sérique: la présence d'un taux de LDH sérique supérieur à la normale est également un facteur de mauvais pronostic.
- Albumine sérique : Un taux d'albumine sérique inférieur à 35g/l est également le témoin d'un pronostic péjoratif.

5.3. Les paramètres liés au traitement

La rémission complète est un critère d'évaluation de l'efficacité du traitement, c'est un indicateur de la survie globale justifiant son utilisation comme objectif dans les essais thérapeutiques. Il est parfois difficile d'affirmer la réponse complète après une cure, mais la constatation d'une réponse supérieure à 50% est de très bon pronostic [90, 91].

5.4. Index pronostic international (IPI):

Selon F.Reys et al. [91], ces dix dernières années ont été consacrés à l'identification des patients dont la maladie ne guérit pas avec un régime de polychimiothérapie conventionnel, et pour lesquels des stratégies thérapeutiques alternatives devaient être envisagées. Dans plusieurs séries, les analyses uniparamétriques ont dégagé des caractéristiques pré-thérapeutiques prédisant la réponse au traitement et la survie. L'association de ces caractéristiques a conduit à des modèles (ou index) pronostiques permettant de stratifier les patients en groupes de risques différents.

Le modèle désormais adopté est l'Index pronostique international (IPI), établi à partir des données de 3 200 patients nord-américains et européens [90,92].

Parmi les variables identifiées, cinq sont considérées comme des facteurs pronostiques défavorables [90]:

- L'âge > ou égal à 60 ans.
- Le stade Ann Arbor III ou IV (Tableau 11).
- La concentration sérique du LDH > normal.
- L'indice de performance selon l'OMS ≥ 2 .
- Le nombre de sites extra-ganglionnaires ≥ 2 .

Nous rappelons que pour les patients âgés de moins de 60 ans susceptibles de tolérer des traitements plus intensifs, trois paramètres subsistent: le stade Ann Arbor, l'indice de performance et la concentration de LDH.

Ainsi, il est à noter que, quatre groupes des patients dont la survie à cinq ans diffère significativement ont été identifiés (Tableau 12) [90, 91].

Tableau 12 : Modèle pronostic, l'index international [90,91].

Groupe à risque	Nombre de facteurs	Survie sans récurrence à 5 ans (%)	Survie à 5 ans (%)
Index (tout âge)			
Faible	0 ou 1	70	73
Faible-intermédiaire	2	50	51
Haut-intermédiaire	3	49	43
Haut	4 ou 5	40	26
Index (âge < 60 ans)			
Faible	0	86	83
Faible-intermédiaire	1	66	69
Haut-intermédiaire	2	53	46
Haut	3	58	32

Dans notre série, la stadification selon Ann Arbor a été réalisée chez 12 patients, dont un seul patient seulement a présenté un stade localisé (stade II) 8.3% et 11 patients ont présenté des stades disséminés (stade IV) 91.6%. Donc au moment du diagnostic, la majorité des patients ont un stade avancé, ceci concorde avec les résultats de la littérature.

La stadification selon BINET a été réalisée chez 3 de nos malades ayant un lymphome lymphocytaire (LLC). 2 malades ont présenté un stade C et un patient seulement a présenté un stade B.

VII. TRAITEMENT

1. moyens thérapeutiques

1.1. La chimiothérapie

Elle est aujourd'hui l'arme thérapeutique essentielle des LNH. Grâce à une intensification des chimiothérapies, les taux de survie ont été améliorés au cours de ces dernières années. Cet accroissement d'efficacité s'accompagne cependant d'un accroissement de leur toxicité [89, 91, 93, 94, 95].

Dans les LNH de bas grade de malignité, malgré la multiplicité des protocoles proposés, la chimiothérapie ne semble pas modifier l'histoire naturelle de la maladie dont la médiane de survie se situe entre 8 et 11 ans.

a. Produits et protocoles :

Les principaux agents sont:

- Ø Les agents alkylants: Cyclophosphamide (Endoxan*).
- Ø Les antimitotiques: Méthotrexate (Méthotrexate*).
- Ø Les agents scindants: Adriamycine (Adriblastine*), Bléomycine (Bléomycine*), Doxorubicine.
- Ø Les agents de fuseau: Vincristine (Oncovin*), VM 26.
- Ø Les corticoïdes: Dexaméthasone.
- Ø Les antipyrimidiques : Cytarabine (Aracytine*).

L'association nommée CHOP (tableau 13) a été développée dans le milieu des années 1970, elle s'est avérée supérieure aux autres associations type COP (tableau 14) - Cyclophosphamide – Oncovin – Prédnisone- ou MOPP (Métoclopramine – oncovin – Procarbasine – Prédnisone) ne contenant pas d'anthracyclines.

v Le protocole CHOP

Tableau 13 : protocole CHOP

Produit	Dose	Mode	Protocole
Cyclophosphamide	750 mg/m ²	IV	J1
Doxorubicine	50 mg/m ²	IV	J1
Vincristine	1,5 mg/m ²	IV	J1 et J5
Prédnisone	100 mg/m ²	Per os	J1 et J5

Une cure toutes les 3 semaines avec un total de 6 cures.

v Le protocole COP

Tableau 14: protocole COP

Produit	Dose	Mode	Protocole
Cyclophosphamide	600 mg/m ²	IV	J1
Vincristine	1 mg/m ²	IV	J1
Prédnisone	400 mg/m ²	Per os	J1 à J21

6 cures hebdomadaires : 1 cure toutes les 3 semaines avec un total de 12 cures.

b. Complications

Les complications classiques de la chimiothérapie sont essentiellement de type hématologique (qui prédomine sur la lignée granuleuse) ou extra-hématologiques (cardiaque à long terme) [91].

1.2. Le Rituximab

a. Définition :

Le Rituximab est un anticorps monoclonal chimérique IgG1 anti-CD20. Les régions constantes IgG1 sont d'origine humaine. Les régions variables d'origine murine se fixent avec une grande affinité à l'antigène CD20 présent à la surface de la plupart des cellules B normales et malignes. Cet anticorps chimérique est faiblement immunogène et peut être administré de façon répétitive [96].

b. Mécanisme d'action :

Le mécanisme de cytotoxicité in vivo reste imparfaitement compris, mais il fait appel probablement à l'inhibition directe de la croissance cellulaire avec induction de l'apoptose, et aux mécanismes de cytotoxicité dépendant du complément et de cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante [96, 97].

c. Utilisation pratique :

Le Rituximab est administré d'ordinaire à raison de 375 mg/m² une fois par semaine durant 4 semaines [98, 99]. Il est très bien toléré. Son administration peut le plus souvent être ambulatoire. La plupart des effets secondaires sont liés à la première perfusion : Plus de 90 % des patients peuvent présenter des frissons, des nausées, de la fièvre ou une hypotension d'intensité légère à modérée. Son impact sur la survie globale est inconnu à l'heure actuelle.

1.3. L'association Rituximab-chimiothérapie

In vitro, cette association montre des effets additifs, parfois synergiques. De plus, il n'y a pas de toxicité croisée et les deux types d'agents peuvent être administrés simultanément sans réduction de dose [100].

1.4. La radio-immunothérapie

Les anticorps anti-CD20 couplés à des isotopes radioactifs offrent la possibilité de cibler la radiothérapie aux cellules lymphomateuses fixant l'anticorps, mais également aux cellules avoisinantes qui ont éventuellement perdu la capacité de fixer cet anticorps [101].

D

ans notre série tous les patients ont reçus leur chimiothérapie, dont 18.6% ont bénéficié d'un protocole CHOP, 41.2% d'un protocole R-CHOP, 31.8% d'un protocole COP, 6.7% du protocole ESHAP et 6.7% du protocole R-ESHAP.

1.5. La chirurgie

Elle n'a plus d'indication dans le traitement des lymphomes [102, 103]. Sa place est limitée à :

- La biopsie exérèse d'une tumeur très localisée qui bénéficiera ultérieurement d'un traitement peu intensif.
- L'exérèse d'une masse résiduelle lors d'un bilan de rémission pour faire la part entre une tumeur nécrosée et un résidu tumoral viable.
- Le traitement d'une complication chirurgicale abdominale.

Dans notre série, aucun patient n'a bénéficié du traitement chirurgical.

1.6. La radiothérapie

La radiothérapie est considérée comme un traitement local ou locorégional. Son rôle s'est également rétréci avec le temps. Elle est indiquée pour les lymphomes gastriques du MALT localisés et lymphomes localisés à grandes cellules en adjonction à la chimiothérapie en cas de réponse incomplète. Elle n'a pas de place dans le traitement des lymphomes ganglionnaires.

2. Stratégies thérapeutiques

Elles ont été établies après plus de dix ans d'utilisation du régime CHOP. La période de traitement est en moyenne de six mois quels que soient les protocoles utilisés. Cette période est moins longue dans les formes localisées. Dans les formes étendues, nous distinguons une première phase dite d'induction qui consiste à délivrer quatre cures (à 15 ou 21 jours d'intervalle) suivie, en cas de bonne réponse, d'une deuxième phase de consolidation. Dans le cas du régime CHOP largement utilisé dans le monde, huit cures sont ainsi délivrées à 21 jours d'intervalle à travers ces deux phases [89, 93, 94, 104].

Les principes du traitement varient en fonction du type et de l'extension (Tableau 15)

[105].

Tableau 15: Les principes thérapeutiques des LNH B de bas grade

Type de lymphome	La stratégie thérapeutique	
	Stade localisé	Stade étendu
LLC	radiothérapie 20 à 30 Gy	Fludarabine – Endoxan +/- Rituximab
Lymphoplasmocytaire	radiothérapie 20 à 30 Gy	Fludarabine – Endoxan + Rituximab
LF	radiothérapie 20 à 30 Gy	R-CHOP 21 avec Zévalin en consolidation
LCM	l'ARACYTINE ou chiomiothérapie + Rituximab +/- autogreffe	
LZM	Polychimiothérapie +/- anthracycline + Rituximab	

L'utilisation simultanée de facteurs de croissance hématopoïétiques est possible, notamment ceux capables de réduire la durée d'aplasie granuleuse.

VIII. Evolution

L'évolution des lymphomes peut se faire vers l'extension, la rémission ou la rechute [89].

1. L'extension

Les LNH ganglionnaires sont généralement disséminés, avec atteinte médullaire (70 % à 80 % des cas).

2. La rémission

La rémission complète RC est un critère d'évaluation de l'efficacité d'un traitement, donnant des informations plus rapides que l'analyse de la survie globale, justifiant son utilisation comme objectif dans les essais thérapeutiques. Tous les protocoles thérapeutiques visent à obtenir cette RC permettant ainsi d'améliorer la survie des patients à long terme. Il est parfois difficile d'affirmer la RC après une cure, mais la constatation d'une réponse supérieure à 50 % est un très bon indice. La régression histologique peut s'obtenir entre le sixième et dix-huitième mois après le traitement.

La rémission ne pourra être affirmée qu'en l'absence de prolifération lymphomateuse à l'histologie lors de deux contrôles successifs [89].

3. La rechute

Le risque de rechute est significativement plus élevé chez les malades ayant initialement un mauvais état général, un lymphome de stade III ou IV, une atteinte médullaire ou un taux de LDH élevé. Dans près de 40 % des cas, la rechute survient dans un site qui n'était pas atteint initialement [89].

4. La surveillance

Une fois la rémission obtenue, la surveillance aura pour but de dépister précocement les rechutes et de surveiller les complications tardives du traitement. La surveillance se fait tous les 3 mois la première année, puis tous les 6 mois pendant 4 ans, puis une fois par an [105].

Les examens à pratiquer sont [105]:

- A chaque consultation : Examen clinique, NFS, plaquettes, CRP, LDH.
- En fin de traitement : TEP-TDM (thoracique et abdominale) sur masses résiduelles. Tous les 6 mois la première année, puis une fois par an durant 3 ans.
- En cas d'envahissement médullaire initial, une BOM sera réalisée dans le bilan de réévaluation.

CONCLUSION

Les lymphomes non hodgkiniens de phénotype B de bas grade correspondent à des lymphomes à petites cellules développés à partir des différents compartiments des follicules lymphoïdes. Ils comprennent les lymphomes folliculaires, les lymphomes des cellules du manteau, les lymphomes de la zone marginale, les lymphomes lymphocytiques et les lymphomes lymphoplasmocytaires.

Nous discuterons dans ce travail rétrospectif, le profil épidémiologique, des LNH de phénotype B de bas grade ganglionnaires, leurs caractéristiques morphologiques, immunohistochimiques et cytogénétiques à travers notre expérience au laboratoire d'anatomie Pathologique CHU Hassan II de Fès, en comparant nos résultats avec ceux de la littérature.

L'essor des techniques immunohistochimiques, le développement des anticorps monoclonaux, de la cytogénétique et de la biologie moléculaire ont abouti à de profonds remaniements dans la conception histogénétique et la classification de ces tumeurs. La classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) est largement fondée sur l'analyse phénotypique et moléculaire des lymphomes.

les progrès datant de 2003 concernant l'association du rituximab aux chimiothérapies d'induction et les essais publiés dans ce sens ont montré l'avantage de cette association et ont également montré un avantage en termes de survie globale.

Notre série se distingue des autres séries de la littérature par la fréquence des lymphomes lymphocytiques et la rareté des autres lymphomes. Les caractères épidémiologiques, les résultats de l'immunohistochimie ainsi que les stades avancés étaient similaires à ceux rapportés dans la littérature.

RESUME

Les lymphomes non hodgkiniens (LNH) de phénotype B de bas grade sont des néoplasies dérivées des lymphocytes B. Ils correspondent à des lymphomes à petites cellules développés à partir des différents compartiments des follicules lymphoïdes. Ils comprennent les lymphomes folliculaires, les lymphomes des cellules du manteau, les lymphomes de la zone marginale, les lymphomes lymphocytiques et les lymphomes lymphoplasmocytaires. En dehors des lymphomes du manteau, ce sont des lymphomes indolents, lentement évolutifs. Ils augmentent régulièrement de fréquence. Une classification exacte est essentielle pour une prise en charge thérapeutique adéquate. Dans ce but, la classification actuelle identifie une liste d'entités définies par des caractéristiques morphologiques, immunologiques, cytogénétiques et moléculaires, et autant que possible par une cellule d'origine précise. Le diagnostic de certitude est anatomopathologique.

Nous discuterons dans ce travail rétrospectif, le profil épidémiologique, des LNH de phénotype B de bas grade ganglionnaires, leurs caractéristiques morphologiques, immunohistochimiques et cytogénétiques à travers notre expérience au laboratoire d'anatomie Pathologique CHU Hassan II de Fès, en comparant nos résultats avec ceux de la littérature.

Nous rapporterons 28 cas de LNH B de bas grade ganglionnaire colligés au sein du service d'anatomie Pathologique sur une durée de 3 ans (2008 à 2010). Le diagnostic a été posé après un examen morphologique sur des pièces de résection chirurgicale complété par une étude immunohistochimique (anticorps anti-CD20, CD5, CD10, CD23, BCL2, BCL6 et cycline D1).

Nous avons précisé pour chaque malade, l'âge, le sexe, la localisation de la maladie, le type histologique, les données immunohistochimiques.

Le stade clinique selon la classification d'Ann-Arbor et de BINET ainsi que les résultats thérapeutiques et l'évolution ne seront précisés que pour 17 patients dont les dossiers médicaux sont exploitables.

L'âge moyen était de 61 ans (40-80 ans). Le sexe masculin était prédominant (sex-ratio = 3.76).

Dans notre série, Le lymphome lymphocytique (LLC) représentait le diagnostic le plus fréquent. Il était porté dans 53.6% des cas. Il était suivi par le lymphome folliculaire et Le lymphome de la zone du manteau, observés chacun chez 5 patients, soit 17.9% des cas. Les

lymphomes de la zone marginale et lymphoplasmocytaire n'étaient présents chez aucun patient.

L'immunohistochimie était réalisée dans 89.3% des cas pour affirmer le diagnostic et éliminer les diagnostics différentiels.

Les stades avancés étaient prédominants ainsi que les signes d'évolutivité cliniques et biologiques.

Notre série se distingue des autres séries de la littérature par la fréquence des lymphomes lymphocytiques et la rareté des autres lymphomes.

Les caractères épidémiologiques, les résultats de l'immunohistochimie ainsi que les stades avancés étaient similaires à ceux rapportés dans la littérature.

BIBLIOGRAPHIE

- [1]- Jaffe E., Harris N., Stein H., Vardiman J. Tumours of haematopoietic and Lymphoid Tissues Lyon: IARC Press (2001) World Health Organization (WHO) Classification of Tumours Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues
- [2]- Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., et al. Tumours of haematopoietic and Lymphoid Tissues Lyon: IARC Press (2008).
- [3]- Potet F et al. Histopathologie du tube digestif collection d'histopathologie (Masson) 1987 ;288-289 ; 295-302
- [4]- J-Pierre Dadoune et all. Histologie.
- [5]- Thèse les aspects anatomopathologiques des lymphomes digestifs 069/9
- [6]- Maloum k., Settegrana C. Cytoponction ganglionnaire. Technique, analyse des frottis, valeur diagnostique EMC(Elsevier Masson SAS, Paris), hématologie, 13000-B-10,2009.
- [7]- Felman P, Gentilhomme O. Atlas de cytopathologie ganglionnaire. Paris : Arnette, 1997.
- [8]- Küppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. Nat Rev Cancer 2005;4;256-62
- [9]- H. EL FATEMI.les lymphomes Mémoire fin d'étude
- [10]- McBride K.M., Gazumyan A., Woo E.M., Schwickert T.A., Chait B.T., Nussenzweig M.C. Regulation of class switch recombination and somatic mutation by AID phosphorylation J. Exp. Med. 2008 ; 205 : 2585-2594.
- [11] G. Russano, C.Laurant, L.Lamant, G. Delsot, P. Brousset, et al. Classification histopathologique, immunologique, cytogénétique et moléculaire des lymphomes non hodgkiniens. EMC 2009(Elsevier Masson SAS) 13-013-A-20
- [12]- R. Gressin et all Diagnosis and nosology of malignant lymphomas among haematological diseases EMC(Elsevier Masson SAS, Paris). Médecine Nucléaire 33 (2009) 482–485
- [13]- Douglas McGregor. Risque de lymphome non hodgkinien chez les pompiers Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (2007). 0820-8395

- [14]- Merhi M, Raynal H, Cahuzac E, Vinson F, Cravedi JP, Gamet-Payrastre L. Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: meta-analysis of case-control studies. *Cancer Causes Control* 2007 Dec;18(10):1209-26
- [15]- Alexander DD, Mink PJ, Adami HO, Chang ET, Cole P, Mandel JS, Trichopoulos D. The non-Hodgkin lymphomas: a review of the epidemiologic literature. *Int J Cancer* 2007;120 Suppl 12:1-39.
- [16]. Ferlay J, Shin H, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int. J. Cancer* 2010. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20560135>. Last accessed 26 August 2010.
- [17]- J. Ferlay, D.M. Parkin, E. Steliarova-Foucher. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur J Cancer* 2010;46(4):765–81.
- [18] Boyle P, International Agency for Research on Cancer. World cancer report 2008. Lyon: IARC Press, 2008.
- [19]- F. Drouet, X. Cahub, Y. Pointreauc, F. Denisd, M.-A. Mahéa et all. Lymphomes malins non hodgkiniens. EMC(Elsevier Masson). Cancer /radiothérapie 14 suppl.1 (2010)S210-S229.
- [20] Monnereau A, Danzon A, Delafosse P, Maynadié M, Troussard X. Estimation de l'incidence et de la mortalité par cancer en France de 1980 à 2005 - Lymphome Malin Non Hodgkinien, INVS 2008.
- [21] Registre des Cancers de RABAT, Incidence des cancers à Rabat, année 2005, édition 2009.
- [22] Registre des Cancers de la Région du Grand Casablanca (RCRC)
- [23] Richard Delarue. Lymphomes malins. La revue du praticien , vol . 58 , 3 1 Mai 2008.
- [24] Eve Roman et Alexandra G Smith. Epidemiology of lymphomas (2011) *Histopathology* 58, 4–14
- [25]- Ekström-Smedby K. Epidemiology and etiology of non-Hodgkin lymphoma- a review. *Acta Oncol* 2006;45:258-71.

- [26]- Freedman, A.S.Nadler, L.M.(2000) Non-Hodgkin's lymphoma. In Bast, R.C., Kufe, D.W., Pollock, R.E., Weichselbaum, R.R., Holland, J.F. & Frei, E. (eds.) Cancer Medicine V. B.C. Decker, Inc., Hamilton, London. pp 2034-2058.
- [27]- Diebold J. La classification des lymphomes malins. Propositions internationales par l'OMS. Ann Pathol 1998 ; 18 : 361-8
- [28]- Lennert K. conceptual basis of the classification of malignant lymphomas. Med J Kagoshima Univ 1995 ; 47 (suppl2) ; 7-31
- [29]- Zuckerman LR. Medeiros LJ. Ferreri JA. Harris NL. Diffuse low grade B-cell lymphomas: four clinically distinct subtypes defined by a combination of morphologic and immunophenotypic features. Am J Clin Pathol 1993;100:373-85
- [30]- Stansfeld AG. Diebold J. Kapancy Y. Kekekyi G. Lennert K. Mioduszevska O. Updated kiel classification for lymphoma. Lancet 1988;i; 292-3 and 603
- [31]- B. Coiffier. Ed. Roche Les Lymphomes non hodgkiniens. Présentation clinique, traitement et évolution. Pharma. 1999
- [32]- P. Colombat, S. Lissandre, C. Foussard et al. Modes de révélation et présentation clinique des entités les plus fréquentes des lymphomes. EMC(Elsevier Masson) Médecine Nucléaire 33 (2009) 476-477
- [33]- Référentiel 2009, société Française d'hématologie
- [34] Howell DA, Smith AG, Roman E. Lymphoma: variations in time to diagnosis and treatment. Eur. J. Cancer Care 2006; 15; 272-278.
- [35] Yaeger TE, Lu JJ, Brady LW. Non-Hodgkin's Lymphoma. Radiation Oncology: An Evidence-Based Approach. Berlin : Springer Verlag ; 2008. p. 399-413.
- [36] Lee CK, Bloomfield CD, Goldman AI, Levitt SH. Prognostic significance of médiastinale involvement in Hodgkin's disease treated with curative radiotherapy. Cancer 1980.46:2403-9.
- [37] F. Montravers, C.de Bazelaire, K.Kerrou, C.Frages, V.Huchet. Imagerie radiologique et TEP Scanner des lymphomes de l'adulte et de l'enfant. J.Radiol 2008 ; 89 :371-86.
- [38] Fishman EK, Kuhlman JE, Jones RJ. CT of lymphoma:spectrum of disease.Radiographics 1991;11:647-69.

- [39] Rahmouni A, Montazel JL, Divine M et al. Bone marrow with diffuse tumor infiltration in patients with lymphoproliferative diseases: dynamic gadolinium-enhanced MR imaging. *Radiology* 2003;229:710-7.
- [40] Brennan DD, Gleeson T, Coate LE, Cronin C, Carney D, Eustache SJ. A comparison of whole-body MRI and CT for the staging of lymphoma. *AJR Am J Roentgenol* 2005;185:711-6.
- [41] Kellenberger CJ, Epelman M, Miller SF, Babyn PS, Fast STIR whole body MR imaging in children. *Radiographics* 2004;24:1317-30.
- [42] Hicks RJ, Mac Manus MP, Seymour JF. Initial staging of lymphoma with Positron Emission Tomography and Computed Tomography. *Semin Nucl Med* 2005;35:165-75.
- [43]- Conduite à tenir devant une adénopathie (291). Docteur Rémy GRESSIN. Avril 2005
Corpus Médical – Faculté de Médecine de Grenoble
- [44]- J Pessey, X Rose, S Vergez. Adénopathies cervicales. ORL. EMC(Elsevier Masson SAS) 2008. 20- 870-A-10
- [45]- Kumarasinghe P. An analysis of 5194 fine needle aspiration biopsy samples. *Ceylon Med J* 1996;41:57-60.
- [46] Koichi Ohshima, Junji Suzumiya, Kensaku Sato, Motonobu Kanda, Seiji Haraoka, Masahiro Kikuchi B-Cell lymphoma of 708 cases in Japan: incidence rates and clinical prognosis according to the REAL classification *Cancer Letters* 135 (1999) 73-81
- [47] National Cancer Institute. SEER cancer statistics review 1975–2001
- [48] Dighiero G, Hamblin TJ, [371:1017-1029 Chronic lymphocytic leukaemia], *Lancet*, 2008;371:1017-1029
- [49] Sellick GS, Catovsky D, Houlston RS, Familial chronic lymphocytic leukemia, *Semin Oncol*, 2006;33:195-201
- [50] Hamblin TJ, Have we been wrong about ionizing radiation and chronic lymphocytic leukemia, *Leuk Res*, 2008; 32:523-525

- [51] Landgren O, Rapkin JS, Caporaso NE, et als. Respiratory tract infections and subsequent risk of chronic lymphocytic leukemia, *Blood*, 2007; 109:2198-2201
- [52]- Bousquet M., Broccardo C., Quelen C., Meggetto F., Kuhlein E., Delsol G., et al. A novel PAX5-ELN fusion protein identified in B-cell acute lymphoblastic leukemia acts as a dominant negative on wild-type PAX5 *Blood* 2007 ; 109 : 3417-3423
- [53] Relander T, Johnson NA, Farinha P, Connors JM, Sehn LH, Gascoyne RD. Prognostic factors in follicular lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28; 2902–2913.
- [54] Sanjay Mukhopadhyay MD, Joseph Readling MD, Philip D. Cotter Ph. Transformation of follicular lymphoma to Burkitt-like lymphoma within a single lymph node. *Human Pathology* (2005) 36, 571– 575.
- [55] Kevin Gatter, Francesco Pezzella, Diffuse large B-cell lymphoma, MINI-SYMPOSIUM: HAEMATOPATHOLOGY UPDATE I. Elsevier Ltd 2009.
- [56] Achten R, Verhoef G, Vanuytsel L, De Wolf-Peeters C. Histiocyte-rich, T-cell-rich B-cell lymphoma: a distinct diffuse large B-cell lymphoma subtype showing characteristic morphologic and immunophenotypic features. *Histopathology* 2002 Jan; 40: 31e45.
- [57] Dogan A, Bagdi E, Munson P, Isaacson PG. CD10 and BCL-6 expression in paraffin sections of normal lymphoid tissue and B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol* 2000; 24:846-52.
- [58] Barrans S, Crouch S, Smith A et al. Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large Bcell lymphoma treated in the era of rituximab. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28; 3360–3365.
- [59] Ye BH, Lista F, Lo Coco F, et al. Alterations of a zinc finger-encoding gene, BCL-6, in diffuse large-cell lymphoma. *Science* 1993; 262:747-50.
- [60] Lo Coco F, Ye BH, Lista F, et al. Rearrangements of the BCL6 gene in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1994; 83: 1757-9.
- [61] Chaganti SR, Chen W, Parsa N, et al. Involvement of BCL6 in chromosomal aberrations affecting band 3q27 in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 1998; 23: 323-7.

- [62] Cazals-Hatem D, Lepage E, Brice P, et al. Primary mediastinal large Bcell lymphoma. A clinicopathologic study of 141 cases compared with 916 nonmediastinal large B-cell lymphomas, a GELA ('Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte') study. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 877-88.
- [63] Murga E, Penas M, Hinz K, et al. Translocations t(11;18)(q21;q21) and (14;18)(q32;q21) are the main chromosomal abnormalities involving MLT/MALT1 in MALT lymphomas. *Leukemia* 2003; 17:2225-9.
- [64] Wotherspoon AC, Finn TM, Isaacson PG. Trisomy 3 in low-grade Bcell lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue. *Blood* 1995; 85: 2000-4.
- [65]- Hermine O., Haioun C., D'agay M.-F., Briere J., Lavignac C., Fillet G., et al. Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma *Blood* 1996 ; 87 (1) : 265-272
- [66]- Alizadeh A.A., Eisen M.B., Davis R.E., Ma C., Lossos I.S., Rosenwald A., et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling *Nature* 2000 ; 403 : 503-511
- [67]- Hans C.P., Weisenburger D.D., Greiner T.C., Gascoyne R.D., Delabie J., Ott G., et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray *Blood* 2004 ; 103 : 275-282
- [68]- Berger F. the different entities and diagnostic problems. Educational program of the european hematology association meeting. 2000.
- [69]- Nathwani BN, Anderson JR, Armitage GO, Cavalli F, Diebold J, Drachenberg MR, et al. Marginal zone B-cell lymphoma: a clinical comparison of nodal and mucosa associated lymphoid tissue types. Non Hodgkin's lymphoma classification project. *J Clin oncol* 1999; 17: 2486-92.
- [70]- Oscier D, Owen R, Johnson S, Splenic marginal cell lymphoma. *Blood Rev* 2005;19: 39 51.
- [71]- Thieblemont C, Felman P, Berger F, Dumontet C, Arnaud P, Hequet O, et al. Treatment of splenic marginal zone B-cell lymphoma: an analysis of 81 patients. *Clin lymphoma* 2002; 3: 41-7.

- [72]- Arcaini L, Burcheri S, Rossi A, Paulli M, Bruno R, Passamonti F, et al. Prevalence of HCV infection in nongastric Marginal zone B-cell lymphoma of MALT, *Ann oncol* 2007; 18-346- 50.
- [73]- Arcaini L, Paulli M, Boveri E. Splenic and nodal marginalzone B-cell lymphomas are indolent disorders at high hepatitis C virus seroprevalence with distinct presenting features but similar morphologic and phenotypic profiles. *Cancer* 2004; 100: 17-15.
- [74]- Suarez F, Lortholary O, Hermine O, Lecuit M, infection-associated lymphomas derived from marginal zone B-cells: a model of antigen-driven lymphoprolifération. *Blood* 2006; 107:3034-44.
- [75]-Algara P., Mateo M.S., Sanchez-Beato M., Mollejo M, Navas I.C., Romero L, Sole E, Salido M., Florensa L., Martinez P., Campo E, Piris M.A., Analysis of the IgV(H) somatic mutations in splenic marginal zone lymphoma defines a group of unmutated cases with frequent Δ q deletion and adverse clinical course, *Blood* 99 (2002) 1299-304.
- [76]-Callet-Bauchu E., Baseggio L, Felman P, Traverse-Glehen A., Berger E, Morel D., Gazzo S., Poncet C.,Thieblemont C., Coiffier B., Magaud J.P., Salles G.,Cytogenetic analysis delineates a spectrum of chromosomal changes that can distinguish non-MALT marginal zone B-cell lymphomas among mature B-cell entities: a description of 103 cases, *Leukemia* 19(2005) 1818-18123.
- [77]-Chacon J.I., Mollejo M., Munoz E., Algara P., Mateo M., Lopez L., Andrade J., Carbonero I.G., Martinez B., Piris M.A., Cruz M.A., Splenic marginal zone lymphoma: clinical characteristics and prognostic factors in a series of 60 patients, *Blood* 100 (2002) 1648-1654.
- [78]- G Delsol, T Al Saati, L Lamant et al. Classification histopathologique, immunologique, cytogénétique et moléculaire des lymphomes malins non hodgkiniens.
- [79]- F. Drouet, X. Cahu, Y. Pointreau, F. Denis, M.-A. Mahé ; Non Hodgkin's lymphomas.
- [80]- A clinical staging system for chronic lymphocytic leukemia: prognostic significance Binet JL et col "*Cancer*" 1977 Aug;40(2):855-64.

- [81]- P. Colombat, S. Lissandre, C. Foussard. Small cell non Hodgkin's lymphomas: Prognostic factors and treatment.
- [82]- Farinha P, Masoudi H, Skinnider BF, et al. Analysis of multiple biomarkers shows that lymphoma-associated macrophage (LAM) content is an independent predictor of survival in follicular lymphoma. *Blood* 2006;106:2169–74.
- [83]- Bernard M, Gressin R, Lefrere F, Drénou B, Branger B, Caulet-Maugendre S, et al. Blastic variant of mantle cell lymphoma: a rare but highly aggressive subtype. *Leukemia* 2001;15:1785–91.
- [84]- Raty R, Franssila K, Joensuu H, Teerenhovi L, Elonen E. Ki-67 expression level, histological subtype, and the International Prognostic Index as outcome predictors in mantle cell lymphoma. *Eur J Haematol* 2002;69:11–20.
- [85]- Greiner TC, Moynihan MJ, Chan WC, Lytle DM, Pedersen A, Anderson JR, et al. p53 mutations in mantle cell lymphoma are associated with variant cytology and predict a poor prognosis. *Blood* 1996;87:4302–10.
- [86]- Brown J.R., Levine R.L., Thompson C., Basile G., Gilliland D.G., Freedman A.S. Systematic genomic screen for tyrosine kinase mutations in CLL *Leukemia* 2008 ; 22 : 1966-1969
- [87]- Ruiz Ballesteros E, Mollejo M, Rodriguez A. Splenic marginal zone lymphoma : proposal of new diagnostic and pronostic markers identified after tissue and cDNA microarray analysis. *Blood* 2005; 106:1831-8.
- [88] Lichtman SM. Aggressive lymphoma in the elderly. *Crit Rev.*
- [89] Masahiko O. Hirshikied A. Kouichi I. Tumor bulk as a pprognostic factor for the management of localized aggressive non hodgkin's lymphoma: a survey of the JAPAN lymphoma radiation therapy group. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, Vol. 48, No. 1, pp. 161–168, 2000 *Oncol Hematol* 2000;33:119-28.
- [90] R. Gressin. Diagnostic et nosologie des lymphomes au sein des hémopathies. *Médecine Nucléaire* 33 (2009) 482–485.
- [91] F. Reyes. Traitement de premiere ligne des lymphomes de « hant grade de malignite » on « lymphomes agressifs ». Elsevier SAS. *CancerIRadiother* 2001 ; 5 : 142s-8s.

- [92] A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The international non Hodgkin's lymphoma prognostic factors project. *N Engl J Med* 1993 ; 329 : 987-94.
- [93] M. Paccalin, L. Lacotte-Thierry, V. Delwail. Traitement du lymphome malin non hodgkinien de haut grade et de stade disséminé du sujet âgé. Elsevier SAS. *Rev Méd Interne* 2002 ; 23 : 632-7.
- [94] Bernard Couderc, Jean-Pierre Dujols, Fatma Mokhtari, Jean-Luc Norkowski. The management of adult aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Critical Reviews in Oncology:Hematology* 35 (2000) 33–48.
- [95] Reyes F, Lepage E, Munck .TN, Morel P, Coiffier B, Lederlin P, et al. Superiority of the ACVBP regimen over combined treatment with three cycles of CHOP followed by involved field radiotherapy in patients (pts) with low risk localized aggressive non Hodgkin's lymphoma: results of the LNH93-1 study. *ASH 2000*. [Abstract 3595] *Blood* 2000 ; 96 Suppl.
- [96] Kevin Tay, Kieron Dunleavy, Wyndham H. Wilson; Novel agents for B-cell non-Hodgkin lymphoma: Science and the promise; *Blood Reviews* 24 (2010) 69–82.
- [97] Cragg MS, Walshe CA, Ivanov AO, Glennie MJ. The biology of CD20 and its potential as a target for mAb therapy. *Curr Dir Autoimmun* 2005;8:140–74.
- [98] Jazirehi AR, Bonavida B. Cellular and molecular signal transduction pathways modulated by rituximab (rituxan, anti-CD20 mAb) in non-Hodgkin's lymphoma: implications in chemosensitization and therapeutic intervention. *Oncogene* 2005;24:2121–43.
- [99] Hiddemann W, Kneba M, Dreyling M, et al. Frontline therapy with Rituximab added to the combination of Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine and Prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood* 2005;106: 3725–32.
- [100] Coiffier B., Lepage E., Brière J., Herbrecht R., Tilly H., Bouabdallah R. , et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-Cell lymphoma. *N Engl J M* 2002 ; 346 : 235-242 [crossref].

- [101] C. Bodet-Milin, P.-Y. Salaun, A. Oudoux, F. Kraeber-Bodéré La radio-immunothérapie en clinique. *Médecine Nucléaire* 32 (2008) 254–257.
- [102] Armitage JO. Treatment of non-Hodgkin's lymphoma. *New Engl J Med* 1993;328:1023–30.
- [103] C Patte, MT Terrier-Lacombe, C Bay. Les lymphomes malins non hodgkiniens de l'enfant : classifications anatomopathologiques, présentations cliniques et traitement. EMC 13-016-A-70.
- [104] Tsutsui K, Shibamoto Y, Yamabe H, et al. A radiotherapeutic experience for localized extranodal non-Hodgkin's lymphoma: prognostic factors and re-evaluation of treatment modality. *Radiother Oncol* 1991;21:83–90.
- [105] Magda A. Benboukeir L. Colombat P. Dartgeas C. Delain M. Girard JJ. Gyan E. Lissandre S. Maakaroun A. Maigre M. Reisenleiter M. Renaud M. Rodon P. Senecal D. Référentiels OncoCentre : Onco-hématologie – validation 2 octobre 2009