

Profil immunologique des syndromes lymphoprolifératifs

	LLC	Tricho	LF	LCM	LZM
Kappa Lambda	+	+/+++	+++	++	+/+++
CD19	++	+	+	+	+
CD10	-	-/+	+/+++	-	-
CD20	+ faible	+++	+	+	+
CD22	-	++	+	+	+++/+
CD23	++	-	+	-	-/+
FMC7	-	+++	+/-	++	++/-
CD5	++	+/-	-	++	-
CD11c	+ faible	+	-	-	+/-
CD25	+ faible	++	-	-	+/-
CD103	-	+++	-	-	-
CD43	++	-	-	+++/+	+/-
CD79b	+/-	-	++	++	+
CD38	-/+	-/+	-/+	-/+	-
CD43	+		-	+	

LLC : Leucémie lymphoïde chronique ; LF : Lymphome folliculaire ; LCM : Lymphome du manteau ; LZM : Lymphome de la zone marginale

Pour aller plus loin Examens complémentaires

Etude de la maladie résiduelle dans les LLC : il est possible d'évaluer la réponse au traitement en quantifiant par cytométrie en flux le clone résiduel circulant. En fonction des équipes, la sensibilité se situe à 10^{-3} ou 10^{-4} .

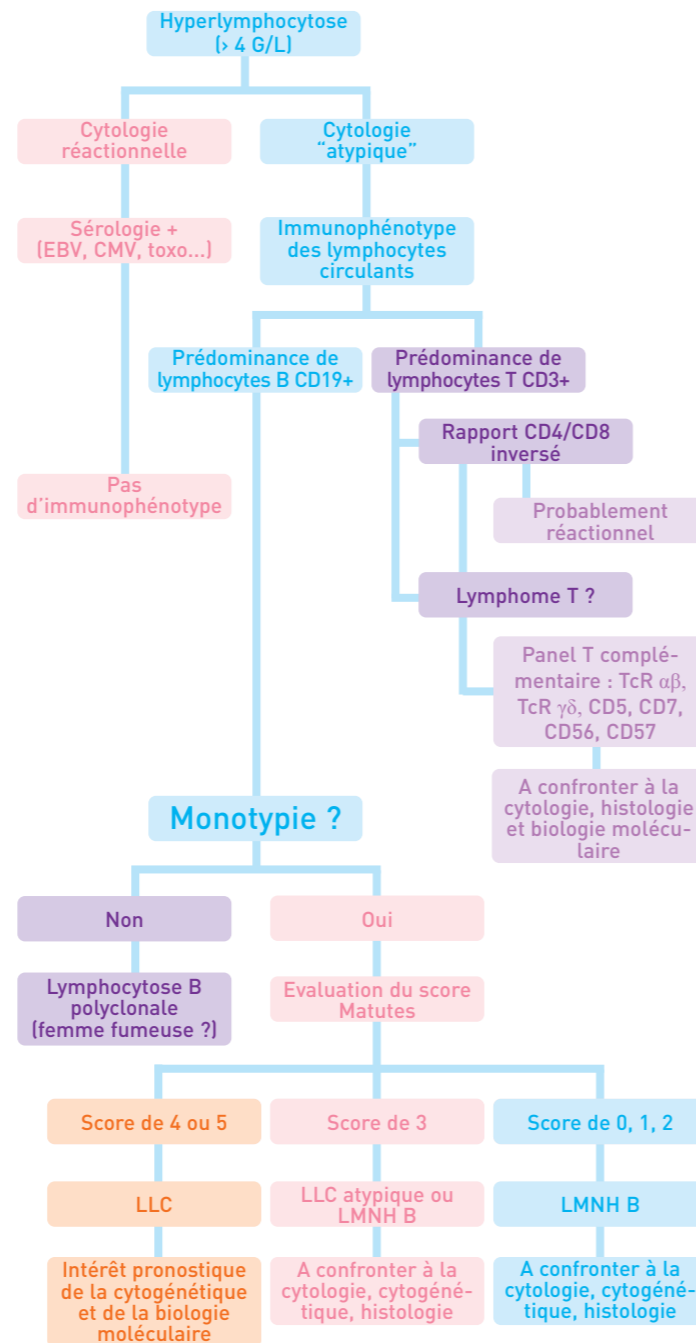
Une **étude cytogénétique** complémentaire est nécessaire pour préciser le diagnostic et évaluer le pronostic, que ce soit pour les LLC ou les LMNH.

La **biologie moléculaire** permet également dans les LLC de déterminer le statut mutationnel des gènes des Immunoglobulines de grande valeur pronostique (péjoratif si non mutés).

Références

- The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. Matutes E, *et al.* Leukemia. 1994 Oct;8(10):1640-5.
- "WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues", Fourth Edition, Swerdlow, S.H., Campo, *et al.* WHO IARC Press 2008.
- International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia. Rawstron AC, *et al.* Leukemia. 2007 May;21(5):956-64. Epub 2007 Mar 15.

Conduite diagnostique des SLP B



Conditions de réalisation des examens et délais du rendu des résultats

- Sang : 2 ou 3 tubes de sang EDTA.
- 2 ou 3 frottis de sang non colorés, non fixés.
- Le résultat du dernier hémogramme.
- Préciser sur le bon de demande : "immunophénotype des lymphocytes circulants à la recherche d'un syndrome lymphoprolifératif".
- Si possible quelques renseignements cliniques.
- Délai : 48 à 72 heures.
- Code nomenclature : 1103 - B300.

Contacts

Unité biologique des hémopathies malignes

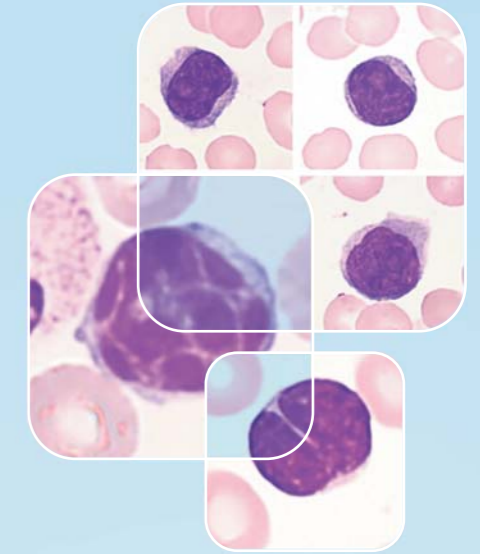
Secrétariat :
Tél. : 04 72 80 23 65 Fax : 04 72 80 23 66

- **Cytologie**
Arnaud MILLARET
Jean Bernard LAMOULIATTE
Laurence PELLEGRINA
- **Immunophénotypage**
Arnaud MILLARET
Nicole COUPRIE
Laurence PELLEGRINA
- **Cytogénétique conventionnelle & moléculaire**
Benôit QUILICHINI
Christiane CHARRIN
- **Biologie Moléculaire**
Saïd EL MOUATASSIM
Benôit QUILICHINI

Biomnis
www.biomnis.com

19 av. Tony Garnier - 69007 LYON - Tél. : 04 72 80 10 10
78 av. de Verdun 94200 IVRY-SUR-SEINE - Tél. : 01 49 59 16 16

Le point sur...



Intérêt de l'immunophénotype des lymphocytes circulants dans la conduite diagnostique des hyperlymphocytoses

FÉVRIER 2009

Définition

Une hyperlymphocytose est définie par un taux de **lymphocytes circulants** > 4G/L.

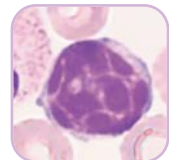
Il peut s'agir :

- D'une hyperlymphocytose réactionnelle.
- D'une hyperlymphocytose tumorale, le plus souvent (+ de 90 % des cas) de nature B. En terme de fréquence il s'agit le plus souvent d'une Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC), suivie des phases leucémiques des lymphomes malins et des leucémies à tricholeucocytes (plus rares).

Quelle doit être la démarche diagnostique ?

- L'étude cytologique est et doit rester la pierre angulaire de la démarche diagnostique des hyperlymphocytoses au laboratoire.
- Cytologiquement les hyperlymphocytoses réactionnelles apparaissent polymorphes avec le plus souvent la présence de lymphocytes stimulés (lymphocytes à différenciation plasmocytaire et/ou lymphocytes de grande taille hyperbasophiles +/- à grains).
- Les hyperlymphocytoses tumorales sont +/- monomorphes avec une cytologie "atypique". Par exemple, dans les LLC, il s'agit de petits lymphocytes à la chromatine mottée accompagnés d'ombres de Gümprrecht.
- Concernant la LLC, les dernières recommandations de la SFH **excluent la réalisation d'un myélogramme dans le bilan diagnostique.**

Quand demander un immunophénotype des lymphocytes circulants ?



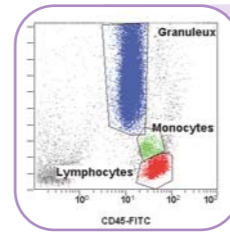
- Dans tous les cas où existe une hyperlymphocytose à cytologie monomorphe et/ou atypique.
- Dans les cas où il existe des éléments lymphoïdes atypiques sans hyperlymphocytose, la demande d'un immunophénotype est à discuter au cas par cas avec le médecin traitant en fonction du contexte clinique.

Quand n'est-il pas nécessaire de demander un immunophénotype ?

- Quand le diagnostic est déjà connu en dehors de l'évaluation de la maladie résiduelle.
- En cas de syndrome mononucléosique clairement identifié (au mieux documenté par les sérologies virales).

Comment interpréter les résultats rendus ?

Dans tout immunophénotype, on utilise un panel. Un panel est un ensemble de marqueurs leucocytaires ou CD (Cluster de Différenciation). Chaque marqueur est plus ou moins spécifique d'un type ou sous type leucocytaire, par exemple le CD3 est spécifique des lymphocytes T et le CD19 est spécifique des lymphocytes B.



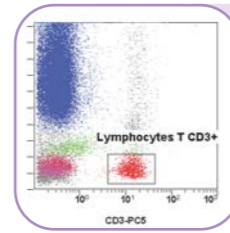
Fenêtrage sur le CD45 ?

Le CD45 est l'antigène pan-leucocytaire permettant de séparer efficacement les granuleux, les monocytes et les lymphocytes. Grâce à ce marqueur on peut cibler précisément les lymphocytes pour établir ce qu'on appelle

le lymphogramme c'est-à-dire l'évaluation des sous-populations lymphocytaires, à savoir :

- Les lymphocytes T exprimant le CD3, N = 55 à 85%
- Les lymphocytes B exprimant le CD19, N = 10 à 20%
- Les lymphocytes NK exprimant le CD16/56, N = 10 à 20%
- Les lymphocytes NKT exprimant à la fois le CD3 et le CD16/56

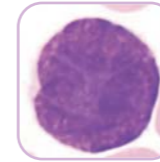
La somme des T+B+NK doit être proche des 100% .



Fenêtrage sur le CD3 ?

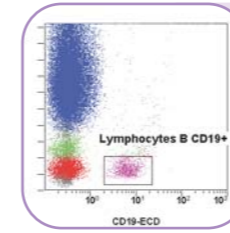
Le CD3 est le marqueur des lymphocytes T. Il existe deux types de lymphocytes T, les lymphocytes T CD4+ ou T helper et les lymphocytes T CD8+ ou T cytotoxique. Chez le sujet sain, le rapport CD4/CD8 est supérieur à 1.

Une inversion du rapport CD4/CD8 est en faveur d'une lymphocytose réactionnelle (virose en cours, syndrome mononucléosique) ou d'un état dysimmunitaire (par exemple infection par le VIH).



Il existe enfin des lymphocytes T $\gamma\delta$ qui sont CD4-CD8- qui représentent une sous population lymphocytaire T normalement inférieure à 5%.

Il peut être utile en cas de suspicion d'un lymphome T, d'étudier d'autres marqueurs T : le CD2, le CD5, le CD7, le CD56, le CD57.

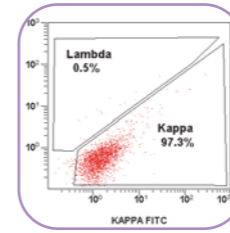


Fenêtrage sur le CD19 ?

Le CD19 est le marqueur des lymphocytes B. D'autres marqueurs sont également spécifiques des lymphocytes B (bien que leur expression puisse varier dans un contexte pathologique) : le CD20, le CD22.

Les lymphocytes B sont également caractérisés par l'expression d'immunoglobulines : IgG, IgM, IgA, IgD et de leurs chaînes légères Kappa et Lambda. Pour des raisons techniques, il est plus facile d'étudier l'expression des chaînes légères Kappa et Lambda à la surface des lymphocytes B. Dans une population B polyclonale on retrouve environ 2/3 de lymphocytes B Kappa pour 1/3 de lymphocytes B Lambda. On parle de population monotypique (et par abus de langage de monoclonalité) quand tous les lymphocytes B sont Kappa ou Lambda.

Une fois définie la monotypie (ou monoclonalité) on s'intéresse au profil immunologique de cette population monotypique en établissant le score de Matutes.



Qu'est ce que le score de Matutes ?

Le score de Matutes correspond à un profil immunologique de marqueurs permettant d'affirmer ou d'exclure une LLC quand on a une monotypie B.

Marqueurs membranaires	Points	
	1	0
Expression des immunoglobulines (Kappa ou Lambda) de surface	Faible	Moyenne ou forte
CD5	+	-
CD22	-/faible	Moyen/Fort
CD23	+	-
FMC7	-	+

Interprétation du score :

- Score 5/5 et 4/5 : il s'agit d'une LLC,
- Score 3/5 : il s'agit d'une LLC atypique ou d'un lymphome B,
- Score 0/5, 1/5 et 2/5 : il ne s'agit pas d'une LLC mais d'un lymphome B.

Il existe des variantes du score de Matutes. Certains laboratoires remplacent pour le calcul du score le CD22 par le CD79b, d'autres calculent un score sur 6 points en intégrant le CD79b dans le score.

Pourquoi utiliser d'autres marqueurs que ceux du score de Matutes ?

Certains marqueurs ont une valeur pronostique : **la positivité du CD38 et ZAP70 est associée à un mauvais pronostic dans la LLC.**

Certains marqueurs permettent d'orienter vers un LMNH B donné : CD10 pour les lymphomes folliculaires ou CD43 pour les lymphomes du manteau.

Certains marqueurs peuvent avoir un intérêt thérapeutique : le CD20 et le CD52 sont les cibles thérapeutiques respectivement du Mabthera et du Campath.



Certaines associations de marqueurs sont caractéristiques : les leucémies à tricholeucocytes sont CD103+ CD11c+ CD25+.