



Article Original

Aspects Cytologiques et Immunophénotypiques des Syndromes Lymphoprolifératifs Chroniques B à Petites Cellules à Dakar (Sénégal)

Cytological and immunophenotypic aspects of chronic B small cell lymphoproliferative syndromes in Dakar, Senegal

Ocko Gokaba LT^{1,5}, Sall A¹, Seck M², Sene A¹, Faye BF², Fall S³, Simo Louokdom J⁶ Ndiaye FSD³, Dieye TN⁴, Diop S², Toure AO¹

RÉSUMÉ

1. Laboratoire d'hématologie- CHU Aristide Le Dantec
2. Centre National de Transfusion Sanguine
3. Service de médecine interne-CHU Aristide Le Dantec
4. Laboratoire d'immunologie- CHU Aristide Le Dantec
5. Laboratoire d'Hématologie – CHU de Brazzaville (Congo)
6. Université des Montagnes (Cameroun)

***Auteur correspondant**

Lethso Thibaut OCKO

GOKABA :

Tél : +242068742064.

E-mail : ockthib@yahoo.fr**Mots-clés :**

Lymphoproliférations chroniques B, Petites cellules, Cytologie, Immunophénotypage

Keywords: Chronic Lymphoproliferation B, Small cells, Cytology, Immunophenotyping

Introduction. Le diagnostic des lymphoproliférations chroniques B (LPCB) à petites cellules est difficile en Afrique sub-saharienne du fait de l'insuffisance des techniques spécialisées et très peu de données sont disponibles sur ces pathologies. Notre étude avait pour objectif de décrire les aspects cytologiques et immuno-phénotypiques des LPCB à petites cellules au Sénégal. **Patients et méthodes.** Il s'est agi d'une étude transversale descriptive, d'une durée de 9 mois, réalisée à l'hôpital Aristide Le Dantec. Nous avons inclus les adultes ayant une hyperlymphocytose supérieure ou égale à 5 giga/l et/ou des lymphocytes atypiques au frottis sanguin. L'hémogramme était fait à l'aide du Sysmex XT2000i (Sysmex Japon) et l'étude immunophénotypique à l'aide du cymomètre de flux FACS Calibur des Laboratoires Becton Dickinson (USA). Les variables étudiées étaient : âge et sexe, splénomégalie et adénopathies, hémogramme, frottis sanguin et les antigènes de surface à l'immunophénotypage. **Résultats.** Vingt et un patients ont été inclus dont 18 hommes et 03 femmes, soit un sex-ratio de 6, et un âge moyen de 63 ans [48 ; 80]. Le syndrome tumoral, présent dans 86 % des cas, était constitué de splénomégalie n= 9 (42,9%) et d'adénopathies n= 18 (86%). La lymphocytose moyenne était de 149,02 giga/l [9 ; 832,93]. Les lymphocytes matures étaient observés dans 18 cas, les lymphocytes monocytoides dans deux cas et les lymphocytes villeux dans un cas. Les patients atteints de leucémie lymphoïde chronique (LLC) étaient au stade C n=11, au stade B n= 07 et au stade A n=01 de la classification de Binet. Les profils immunophénotypiques retrouvés étaient 18 cas de LLC typique CD5 +, CD 23+, CD22 -, FMC7- et IgS faibles (score de Matutes à 5) ; deux cas de lymphome de la zone marginale CD5-, CD 23+, CD22+, FMC7+ et IgS + (Matutes à 1) et un cas de LLC atypique CD5+, IgS+, CD23-, CD22 et FMC7 faibles (Matutes à 3). **Conclusion.** La caractérisation des SLPB nous a permis de mieux faire la différence entre ces entités souvent similaires d'un point de vue cytologique. L'immunophénotypage est un outil complémentaire de la cytologie pour le diagnostic différentiel des SLPB.

ABSTRACT

Introduction. Differential diagnosis of small cell chronic B lymphoproliferations (CBL) is difficult in sub-Saharan Africa due to insufficient specialized techniques and very little data is available on these diseases. The objective of our study was to describe the cytological and immuno-phenotypic aspects of small cell LPCBs in Senegal. **Patients and methods.** This was a 9-month cross-sectional descriptive study conducted at Aristide Le Dantec Hospital. We included adults with hyperlymphocytosis of 5 giga/l or more and/or atypical lymphocytes in the blood smear. The blood count was done using Sysmex XT2000i (Sysmex Japan) and the immunophenotypic study using the FACS Calibur flow cytometer from Becton Dickinson Laboratories (USA). The variables studied were: age and sex, splenomegaly and adenopathies, blood count, blood smear and surface antigens at immunophenotyping. **Results.** Twenty-one patients were studied, including 18 males and 03 females, (sex ratio =6), with an average age of 63 years [48; 80]. Mass syndrome was present in 86% of cases and consisted of splenomegaly n= 9 (42.9%) and adenopathies n= 18 (86%). The average lymphocytosis count was 149.02 giga/l[9; 832.93]. Mature lymphocytes were found in 18 cases, monocytoid lymphocytes in two cases and citrus lymphocytes in one case. The Binet classification stages of patients with CLL were as follows: stage C (n=11), stage B (n=07) and stage A (n=01). The immunophenotypic profiles found were 18 cases of typical CD5+, CD 23+, CD22-, FMC7- and low IgS CLL (Matutes score at 5); two cases of marginal lymphoma CD5-, CD 23+, CD22+, FMC7+ and IgS+ (Matutes at 1) and one case of atypical CD5+, IgS+, CD23-, CD22 and low FMC7 (Matutes 3). **Conclusion.** Characterization of SLPBs permits better differentiation of these often cytologically similar entities. Immunophenotyping is a complementary tool to cytology for the differential diagnosis of SLPB.

INTRODUCTION

Les syndromes lymphoprolifératifs B (SLPB) à petites cellules sont un ensemble de proliférations clonales qui affectent les cellules matures de la lignée lymphoïde B [1]. La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la forme de leucémie la plus répandue chez les adultes dans le monde occidentale [2]. En 2018, 20940 personnes ont été diagnostiquées de la LLC et 4510 décès répertoriés aux États unis [3].

La fréquence de la LLC et celle des lymphomes non hodgkiniens à l'hôpital Aristide Le Dantec de Dakar étaient respectivement de 8,4% et de 19,5% en 2009 [4]. Le diagnostic de ces pathologies reste délicat dans notre pratique quotidienne en raison des formes cytologiques atypiques de la LLC et des autres SLPCB, entre autre le lymphome du manteau, le lymphome de la zone marginale et le lymphome folliculaire. Ceux ci, peuvent disséminer dans la moelle osseuse et dans le sang périphérique. Il existe alors un risque de diagnostic erroné car la LLC et ces lymphomes non hodgkiniens à petites cellules B peuvent partager les caractéristiques morphologiques.

L'immunophénotypage par cytométrie en flux est couramment utilisé pour faire la distinction entre la LLC et la majorité de lymphomes à cellules B matures [5,6]. Au Sénégal, peu d'études sur la caractérisation des lymphoproliférations chroniques B à petites cellules ont été effectuées. Cette présente étude a pour objectif de décrire les aspects cytologiques et immunophénotypiques des SLPB à petites cellules à Dakar.

PATIENTS ET MÉTHODES

Il s'est agi d'une étude transversale analytique d'une durée de 9 mois, réalisée au sein des laboratoires

d'Hématologie et d'Immunologie de l'hôpital Aristide Le Dantec (HALD). Les adultes de plus de 20 ans avec une hyperlymphocytose supérieure à 5 giga/l et/ou des lymphocytes atypiques ont été recrutés au Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) et au sein du service de médecine interne de l'HALD. Le consentement libre et éclairé des patients était au préalable obtenu par écrit.

Pour chaque patient, cinq (5) millilitres de sang, prélevés au pli du coude dans de tube EDTA (Ethyène Diamine Tétra Acétique), étaient d'abord analysés à l'aide de l'automate ABX pentra 60 des laboratoires Horiba puis au frottis sanguin après coloration au May-Grünwald Giemsa (MGG). Ensuite, l'immunomarquage était réalisé selon le protocole de la firme BD à l'aide du cymomètre de flux FACS Calibur. Les panels d'anticorps monoclonaux d'orientation et des SLPCB des laboratoires Biosciences étaient conjugués aux fluorochromes AlloPhycoCyanine (APC), Protéine de Chlorophylle de Périidine (PerCP), Fluorescéine Iso ThioCyanate (FITC) et Phycoérythrine (PE) [Tableau I]. Le marqueur évalué était considéré comme négatif lorsque la cible était inférieure à 10^1 , faible lorsque la cible était comprise entre 10^1 et 10^2 et positif lorsqu'elle était supérieure ou égale à 10^2 . Le score de Matutes consistait en l'attribution d'un (01) point en présence des marqueurs CD5, CD23, de faible expression des immunoglobulines de surface (IgS) et en l'absence ou faible expression de CD22 et de FMC7 [7].

Les variables étudiées étaient en rapport avec les caractéristiques épidémiologiques (âge et sexe), cliniques (splénomégalie et adénopathies superficielles) et biologiques : hémogramme, frottis sanguin (morphologie des lymphocytes et ombres de Gümprécht) et les antigènes de surface à l'immunophénotypage (Tableau I)

Tableau I: panels d'anticorps monoclonaux

Fluorochromes	Panel d'orientation		Panel de SLPCB		
	B : Tube 1	T : Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5
APC	CD45	CD45	CD45	CD45	CD45
PerCP	CD3	CD19	CD19	CD19	CD19
FITC	CD4	K	Fmc7	CD22	CD10
PE	CD8	L	CD5	CD23	CD38

T: lymphocytes T, B: lymphocytes B

Les données étaient analysées à l'aide du logiciel SPSS version 2.0. Le test exact de Fisher a été utilisé, il a servi à la comparaison des paramètres qualitatifs. Le seuil de significativité a été fixé à 5%. L'étude a été approuvée par le comité d'éthique de l'université Cheikh Anta Diop de Dakar.

RÉSULTATS

Vingt et un patients étaient colligés. Parmi eux, il y avait 18 hommes et 3 femmes, soit un sex ratio de 6 avec un âge moyen de 63 ans [48 ; 80]. La tranche d'âge de 50 à 70 ans avait n=14 (67%) patients suivie de celle de plus de 70 ans n=6 (28%) patients. Les adénopathies étaient observées chez n=18(86%) et la splénomégalie chez n=09 patients.

Tableau II: paramètres de l'hémogramme des patients de SLPCB à petites cellules

	Moyenne	minimum	maximum
Leucocytose (giga/l)	180,14	6,7	876,8
Lymphocytose (giga/l)	149,02	5	832,93
Lymphocytes atypiques (giga/l)	8,25	0,5	30,9
Hémoglobine (g/l)	9,70	4	14
Plaquettes (mm ³ /l)	165,86	64	454

L'hyperleucocytose franche était observée chez 17 patients dont 9 cas chiffrés à plus de 100 giga/l. Les paramètres de l'hémogramme sont résumés dans le tableau II.

Au frottis sanguin, les lymphocytes matures étaient observés dans 18 cas (Figure 1A); ils étaient de petite taille avec un rapport nucléo-cytoplasmique élevé. La

chromatine nucléaire était dense, mottée et sans nucléole (1 flèche rouge).

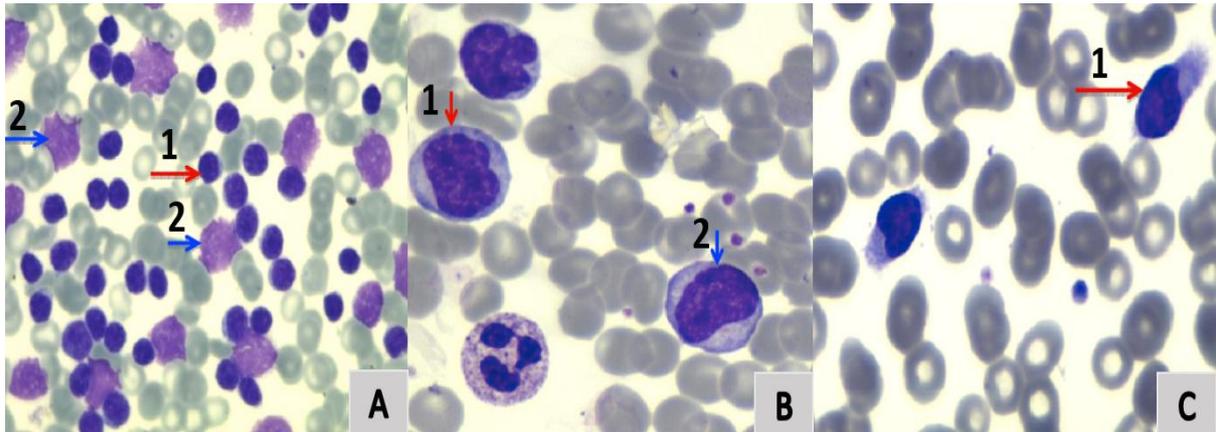


Figure 1 : aspects cytologiques de la LLC (A), de lymphome de la zone marginale (B) et de la LLC atypique (C)

Il révélait par ailleurs la présence d'ombres de Gumprecht (flèche bleue). Ces aspects cytologiques étaient évocateurs de la LLC. Les lymphocytes monocytoïdes (Figure 1B) étaient observés sur 2 frottis sanguins à plus de 80% ; leur cytoplasme basophile avec un rapport nucléo-cytoplasmique compris entre 0,6 et 0,8. Le noyau était soit irrégulier conférant aux cellules un aspect « monocytoïde » (1 flèche rouge), soit grossièrement ovale (2 flèche bleue). Il n'y avait pas de granulations ni d'ombres de Gumprecht. Enfin, des lymphocytes montrant des villosités (Figure 1C) sous forme d'expansion cytoplasmique polaire (flèche rouge), sans ombres de Gumprecht.

A l'immunophénotypage, le CD19 était exprimé chez plus de 50% des patients. Le CD38 était exprimé chez 14 (74%) patients atteints de LLC. Trois (03) profils

immunophénotypiques étaient retrouvés selon le score de Matutes :

- 18 cas (86%) avec expression de CD5 ($p=0,005$) et de CD 23 ($p=1$), de CD22 faible ($p=0,014$), de FMC7 faible ($p=0,005$) et les IgS faibles ($p=0,014$). Les IgS étaient de type Kappa $n=12$ (66,7%) et de type lambda $n= 6$ (33,3%) ; soit un Matutes à 5 compatible au diagnostic de la LLC typique (Figure 2).
- 02 cas : CD23+, CD22+,FMC7+, CD5- et IgS+, soit un score de Matutes à 1, compatibles au lymphome de la zone marginale à lymphocytes vilieux (Figure 3)
- 01 cas : CD5+, IgS+, CD23-, CD22 faible et FMC7 faible, soit un score de Matutes à 3, compatible à la LLC atypique (figure 4)

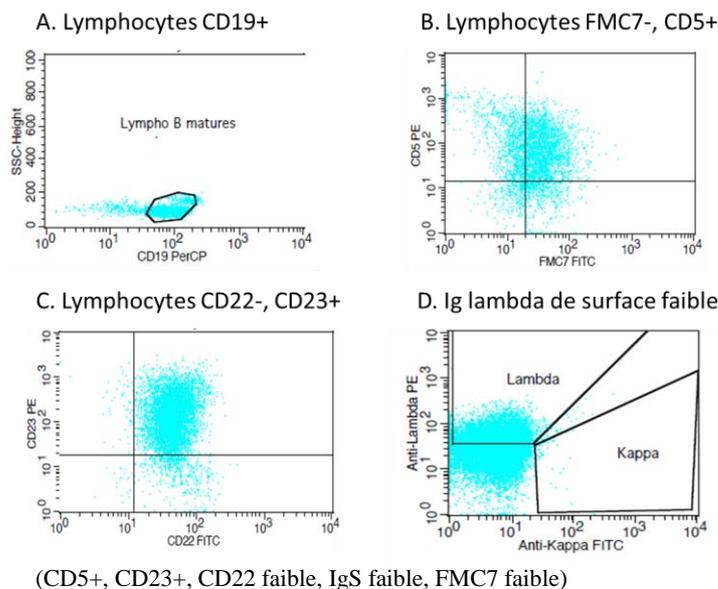


Figure 2 : Profil immunologique de la LLC typique avec un score de Matutes à 5

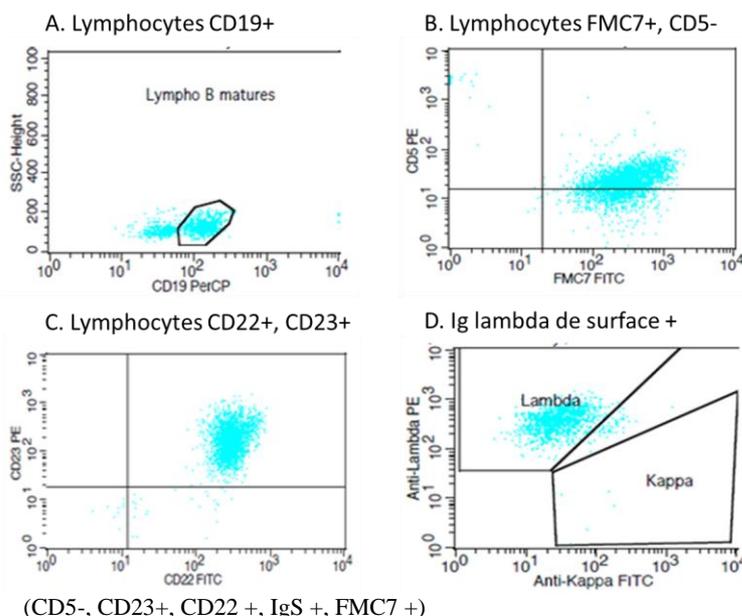


Figure 3 : profil immunologique de lymphome de la zone marginale (Matutes à 1)

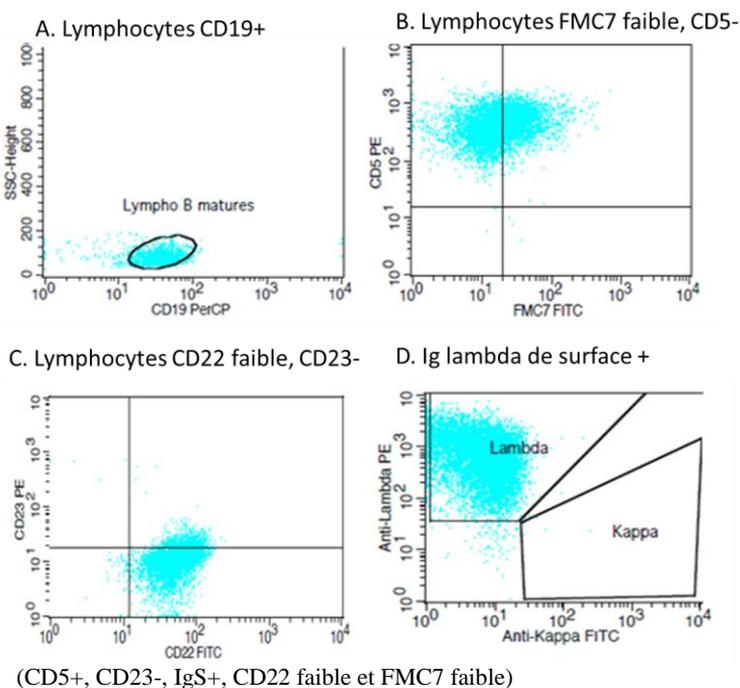


Figure 4 : profil immunologique de la LCC atypique avec Matutes à 3

DISCUSSION

Nous avons recensé au cours de notre étude 21 cas de SLPCB avec une prédominance de LLC typique semblable à celle rapporté dans la littérature française [8, 9,10]. L'âge médian de nos patients, 63 ans, était identique à celui rapporté par des auteurs africains et européens [11, 12, 10,13]. Le sex ratio de nos patients était de 6. Ce résultat est en accord avec d'autres auteurs [5, 12, 13]. Par contre, Koffi en Côte d'Ivoire et de Struski en France rapportent un sex ratio plus faible de 1,24 et 1,66 respectivement [12, 9]. La durée d'études, la

taille d'échantillon et les méthodes diagnostiques pourraient expliquer ces différences.

Dans notre série, les adénopathies périphériques (18 cas) étaient plus observées que la splénomégalie (9cas). Koffi en Côte d'Ivoire et Izzia [14] en République Démocratique du Congo rapportent quant à eux que la splénomégalie est un signe constant dans la LLC.

S'agissant de la cytologie, établie selon la classification de l'OMS de 2008 [2], les lymphocytes suspects de LLC avec moins de 10% de lymphocytes atypiques sur tous les frottis ; ces observations étaient similaires à celles de la littérature [2,15, 8]. Les ombres de Gümprrecht, qui sont des noyaux de cellules

lymphoïdes fragiles, étaient plus observées dans la LLC que dans le LZM à lymphocytes non villeux avec une différence non significative. La faible taille de notre échantillon pourrait expliquer ce résultat. Cependant, Guillaume en France a trouvé que les ombres de Gümprecht peuvent être un marqueur cytologique de la LLC ($P < 0,01$). Ainsi, l'auteur n'a considéré que les ombres de Gümprecht à partir d'une valeur seuil, définie chez des sujets témoins, supérieure ou égale à 10 pour 100 cellules lymphoïdes. Nous avons également noté deux frottis dont les cellules lymphoïdes avaient aspect « monocytoïdes » majoritaire. Il n'y avait pas de cellules villeuses, ni cellules blastiques ni ombres de Gümprecht. Ces aspects étaient évocateurs d'un lymphome de la zone marginale à lymphocytes non villeux après confrontation aux données immunophénotypiques. Dans notre série, un frottis a révélé la présence des petits lymphocytes matures avec des villosités polaires associés à une splénomégalie, ayant posé un problème de diagnostic différentiel entre la LLC avec artefacts de villosités et un lymphome splénique à lymphocytes villeux. Le score de Matutes à 3 était en faveur d'une LLC atypique.

Selon Matutes, la LLC se caractérise par les positivités de CD5 et de CD23 et la faible expression des immunoglobulines de surface à l'immunophénotypage [7]. Ce qui était le cas dans la quasi-totalité des LLC diagnostiquées au cours de cette étude. Notre étude a montré les différences significatives entre la LLC et LZM à lymphocytes non villeux : le CD5 ($P=0,005$), les immunoglobulines de surface ($P=0,014$), le CD22 ($P=0,014$) et le FMC7 ($P=0,005$). Dans le même sens, Guillaume en France a rapporté le CD23 positif et la faible expression des immunoglobulines de surface comme marqueurs majeurs des cas de LLC. Selon Guillaume, l'absence de CD5 dans certains cas de LLC s'expliquerait par le fait que les patients atteints de LLC CD5 négatif (sans atypies cytologiques) sont, par rapport à des patients LLC CD5 positif, plus âgés au moment du diagnostic et se trouvent à un stade plus avancé de la maladie. Lorsque le score de Matutes était de 3, le diagnostic différentiel s'est posé entre la LLC et le lymphome à cellules du manteau (LCM), car certains auteurs dont Felman [16], décrivent ce profil dans la reconnaissance du LCM. Cependant, pour ces formes peu évidentes immunologiquement, il est nécessaire de compléter les explorations avant de porter le diagnostic final par le dosage de la cycline D1 qui est un facteur discriminatif. D'autres auteurs proposent le CD200 en remplacement du CD23 afin d'améliorer le système de notation de Matutes et d'obtenir une meilleure discrimination des troubles lymphoprolifératifs CD5+ avec des immunophénotypes aberrants [17]. Mais les aspects cytologiques et la faible expression de FMC7, nous ont permis de nous prononcer en faveur de la LLC atypique. L'absence des marqueurs CD5 et CD10 dans 2 cas suspects de lymphome de la zone marginale (LZM) nous a permis de retenir le diagnostic de LZM à lymphocytes non villeux ce malgré la positivité de CD23, car ces lymphomes sont le plus souvent CD5 et CD23 négatifs [16] posant ainsi le problème de leur phénotypage. Dans le même sens, Felman considère que

ces lymphomes peuvent être CD5 positifs ce qui rend le diagnostic particulièrement difficile [16].

CONCLUSION

La caractérisation des SLPB nous a permis de mieux faire la différence entre ces entités souvent similaires d'un point de vue cytologique. La LLC typique était la pathologie la plus fréquente. L'immunophénotypage est un outil complémentaire de la cytologie pour le diagnostic différentiel des SLPB. Toute fois, le dosage de la cycline D1 et celui du CD200 étaient indispensables pour différencier la LLC atypique du LCM.

RÉFÉRENCES

- Geneviève F, Delisle V, Gardembas M, Foussard C, Gardais J, Zandecki M. Les hémopathies lymphoïdes chroniques de l'adulte: la leucémie lymphoïde chronique et phase de dissémination des lymphomes à petites cellules. *Ann. Biol. Clin* 2001; 59(4):403-15.
- Swerdlow SH, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon, France: World Health Organization 2008.
- Wierda W G, Byrd JC, Abramson J S, Bilgram S F, Bociek G, Brander D et al. Chronic lymphocytic leukemia /small lymphocytic lymphoma. *J Natl Compr Canc Netw* 2019; 17(1) :12-20.
- Elkacim S. Aspects épidémiologique, Clinique et thérapeutique des hémopathies malignes à la clinique médicale au CHU Aristide Le Dantec. Thèse de médecine, Dakar 2009; n°56.
- Craig FE, Foon KA. Flow cytometric Immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood*. 2008; 111: 3941-3967.
- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International workshop on chronic lymphocytic leukemia updating the National cancer institute-working group 1996 guidelines. *Blood* 2008; 111:5446-56.
- Matutes E, OwusuAnkomah K, Morilla R, et al. The immunological profile of B cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia* 1994; 8:1640-5. (7)
- Guillaume N, Alimardani G, Capiod JC, Claisse JL. Pertinence des analyses cytologiques et immunophénotypiques dans le diagnostic de la leucémie lymphoïde chronique B. *Ann Biol Clin* 2002; 60:673-81.
- Struski S, Leymarie V, Helis C, Falkenrodt A, Fohrer C, Audhuy B et al. Etude cytologique, immunophénotypique et cytogénétique d'une série de 136 cas consécutifs d'hémopathies lymphoïdes chroniques à cellules B matures. *Pathologie Biologie* 2007; 55:59-72.
- Troussard X. Diagnostic, pronostic et traitement chez les patients avec une leucémie lymphoïde chronique. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 2007; 22:313-18.
- Cymbalista L. LLC: physiopathologie, diagnostic et thérapeutique. *Revue Francophone des Laboratoires* 2013; 452:61-71.
- Koffi KG, Nanho DC, Tolo A, N'Dathz E, Kouakou B, Meite N et al. La leucémie lymphoïde chronique du Noir en Afrique sub saharienne: caractéristiques cliniques thérapeutiques et pronostiques (cas de la Côte d'Ivoire). *Bull cancer* 2009; 96:901-06.
- Troussard X. Nouveautés sur les hémopathies lymphoïdes chroniques B matures. *Immunol Biol Spec* 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/j.immbio.2013.03.001>
- Izzia K. Les leucémies lymphoïdes chroniques au Zaïre (Congo Démocratique) à propos de 39 cas. *Med Afr Noire* 1997; 24:225-58.
- Delsol G. Classification OMS 2008 des lymphomes. *Ann. Pathol.* 2008; 28:20-24.
- Felman P, Merle-Béral H. aspects cytologiques et immunophénotypiques des syndromes lymphoprolifératifs chroniques. *Revue Française des Laboratoires* 1999; 313:31-7.
- Ting Y S, Smith S A B C, Brownl D A, Dodds A J, Fay K C, Ma D D F et al. CD200 is a useful diagnostic marker for identifying atypical chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry. *Int J Lab Hem.* 2018;00:1-7.