AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE DE LORRAINE - FACULTE DE PHARMACIE

Année 2013

MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE BIOLOGIE MEDICALE

Soutenu devant le jury interrégional le vendredi 12 avril 2013

Anne-Lise GRESSOT

née le 20 décembre 1983

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de

Thèse pour le diplôme d'état de DOCTEUR EN PHARMACIE

Caractéristiques morphologiques des lymphocytes binucléés dans la lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés, les syndromes lymphoprolifératifs et certains syndromes réactionnels

Membres du Jury

Président :	Mme Béatrice FAIVRE, PU, Hématologie-Biologie Cellulaire, Faculté de pharmacie, Nancy
Juges :	Mr Jean-François LESESVE, PH, Hématologie Biologique, CHU Nancy – *Directeur de thèse*
	Mr François PLENAT, PU-PH, Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Nancy
	Mr Xavier TROUSSARD, PU-PH, Hématologie Biologique, CHU Caen
	Mr Edouard CORNET, AHU, Hématologie Biologique, CHU de Caen

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2012-2013

DOYEN
Francine PAULUS
Vice-Doyen
Francine KEDZIEREWICZ
Directeur des Etudes
Virginie PICHON
Président du Conseil de la Pédagogie
Bertrand RIHN
Président de la Commission de la Recherche
Christophe GANTZER
Président de la Commission Prospective Facultaire
Jean-Yves JOUZEAU
Responsable de la Cellule de Formations Continue et Individuelle
Béatrice FAIVRE

Responsable ERASMUS :	Francine KEDZIEREWICZ
Responsable de la filière Officine :	Francine PAULUS
Responsables de la filière Industrie :	Isabelle LARTAUD, Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable du Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier :	Jean-Michel SIMON
Responsable Pharma Plus E.N.S.I.C. :	Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable Pharma Plus E.N.S.A.I.A. :	Raphaël DUVAL/Bertrand RIHN

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES
Jeffrey ATKINSON
Gérard SIEST
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Roger BONALY
Pierre DIXNEUF
Marie-Madeleine GALTEAU
Thérèse GIRARD
Maurice HOFFMANN
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET
Marcel MIRJOLET
Maurice PIERFITTE
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Jean-Louis MONAL
Dominique NOTTER
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

ENSEIGNANTS	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	*82*	*Thérapie cellulaire*
Chantal FINANCE	*82*	*Virologie, Immunologie*
Jean-Yves JOUZEAU	*80*	*Bioanalyse du médicament*
Jean-Louis MERLIN	*82*	*Biologie cellulaire*
Alain NICOLAS	*80*	*Chimie analytique et Bromatologie*
Jean-Michel SIMON	*81*	*Economie de la santé, Législation pharmaceutique*

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Jean-Claude BLOCK	*87*	*Santé publique*
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	*86*	*Pharmacologie*
Raphaël DUVAL	*87*	*Microbiologie clinique*
Béatrice FAIVRE	*87*	*Biologie cellulaire, Hématologie*
Pascale FRIANT-MICHEL	*85*	*Mathématiques, Physique*
Christophe GANTZER	*87*	*Microbiologie*
Max HENRY	*87*	*Botanique, Mycologie*
Pierre LABRUDE	*86*	*Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile*
Isabelle LARTAUD	*86*	*Pharmacologie*
Dominique LAURAIN-MATTAR	*86*	*Pharmacognosie*
Brigitte LEININGER-MULLER	*87*	*Biochimie*
Pierre LEROY	*85*	*Chimie physique*
Philippe MAINCENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Alain MARSURA	*32*	*Chimie organique*
Patrick MENU	*86*	*Physiologie*
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	*86*	*Chimie thérapeutique*
Bertrand RIHN	*87*	*Biochimie, Biologie moléculaire*

MAITRES DE CONFÉRENCES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Béatrice DEMORE	*81*	*Pharmacie clinique*
Julien PERRIN	*82*	*Hématologie biologique*
Marie SOCHA	*81*	*Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique*
Nathalie THILLY	*81*	*Santé publique*

MAITRES DE CONFÉRENCES

Sandrine BANAS	*87*	*Parasitologie*
Mariette BEAUD	*87*	*Biologie cellulaire*
Emmanuelle BENOIT	*86*	*Communication et Santé*
Isabelle BERTRAND	*87*	*Microbiologie*
Michel BOISBRUN	*86*	*Chimie thérapeutique*
François BONNEAUX	*86*	*Chimie thérapeutique*
Ariane BOUDIER	*85*	*Chimie Physique*
Cédric BOURA	*86*	*Physiologie*
Igor CLAROT	*85*	*Chimie analytique*
Joël COULON	*87*	*Biochimie*
Sébastien DADE	*85*	*Bio-informatique*
Dominique DECOLIN	*85*	*Chimie analytique*
Roudayna DIAB	*85*	*Pharmacie galénique*
Natacha DREUMONT	*87*	*Biologie générale, Biochimie clinique*
Joël DUCOURNEAU	*85*	*Biophysique, Acoustique*

ENSEIGNANTS (suite)	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
Florence DUMARCAY	*86*	*Chimie thérapeutique*
François DUPUIS	*86*	*Pharmacologie*
Adil FAIZ	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Luc FERRARI	*86*	*Toxicologie*
Caroline GAUCHER-DI STASIO	*85/86*	*Chimie physique, Pharmacologie*
Stéphane GIBAUD	*86*	*Pharmacie clinique*
Thierry HUMBERT	*86*	*Chimie organique*
Frédéric JORAND	*87*	*Environnement et Santé*
Olivier JOUBERT	*86*	*Toxicologie*
Francine KEDZIEREWICZ	*85*	*Pharmacie galénique*
Alexandrine LAMBERT	*85*	*Informatique, Biostatistiques*
Faten MERHI-SOUSSI	*87*	*Hématologie*
Christophe MERLIN	*87*	*Microbiologie*
Blandine MOREAU	*86*	*Pharmacognosie*
Maxime MOURER	*86*	*Chimie organique*
Coumba NDIAYE	*86*	*Epidémiologie et Santé publique*
Francine PAULUS	*85*	*Informatique*
Christine PERDICAKIS	*86*	*Chimie organique*
Caroline PERRIN-SARRADO	*86*	*Pharmacologie*
Virginie PICHON	*85*	*Biophysique*
Anne SAPIN-MINET	*85*	*Pharmacie galénique*
Marie-Paule SAUDER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Gabriel TROCKLE	*86*	*Pharmacologie*
Mihayl VARBANOV	*87*	*Immuno-Virologie*
Marie-Noëlle VAULTIER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Emilie VELOT	*86*	*Physiologie-Physiopathologie humaines*
Mohamed ZAIOU	*87*	*Biochimie et Biologie moléculaire*
Colette ZINUTTI	*85*	*Pharmacie galénique*
PROFESSEUR ASSOCIE		
Anne MAHEUT-BOSSER	*86*	*Sémiologie*
PROFESSEUR AGREGE		
Christophe COCHAUD	*11*	*Anglais*

**Disciplines du Conseil National des Universités :*
80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé
82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques
85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé
87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques
32 : Personnel enseignant-chercheur de sciences en chimie organique, minérale, industrielle
11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

Remerciements

A notre Présidente de jury,

Madame le Professeur Béatrice FAIVRE,

PU, Faculté de Pharmacie de Nancy.

Vous nous faites l’honneur d'accepter la présidence de ce jury.

Nous vous remercions pour l'intérêt manifesté envers ce travail.

Veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.

A notre directeur de thèse,

Monsieur le Docteur jean-François LESESVE,

PH, service d'Hématologie Biologique, CHU de Nancy.

Vous nous avez fait l'honneur de nous confier ce travail et nous vous en remercions.

Merci de nous avoir si bien encadrée et soutenue lors de ce travail.

Nous tenons à vous témoigner notre profonde reconnaissance.

Nous vous remercions de nous avoir consacré tout le temps nécessaire et de nous avoir éclairé sur vos connaissances.

C'est pour nous un grand honneur de vous compter parmi nos juges et de pouvoir profiter de votre savoir.

Nous vous exprimons toute notre gratitude.

A nos juges,

Monsieur le Professeur François PLENAT,

PU-PH, chef du service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Nancy.

Nous sommes particulièrement sensibles à l'honneur que vous nous faites d'accepter de juger ce travail.
Nous vous remercions très sincèrement d'être présent parmi nous.
Soyez assuré de toute notre gratitude et de notre profond respect.

Monsieur le Professeur Xavier TROUSSARD,

PU-PH, service d'Hématologie Biologique, CHU de Caen.

Nous vous remercions chaleureusement de l'honneur que vous nous faites d'avoir accepté de juger ce travail.
C'est pour nous un grand honneur de vous compter parmi nos juges et de pouvoir profiter de votre savoir.
Nous vous remercions pour l'intérêt que vous portez à ce sujet.
Trouvez ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Monsieur le Docteur Edouard CORNET,

AHU, service d'Hématologie Biologique, CHU Caen.

C'est pour nous un grand honneur de vous compter parmi nos juges.
Nous vous remercions pour l'intérêt que vous portez à ce sujet.
Nous vous exprimons toute notre gratitude.

A mes parents,

Merci pour tout l'amour que vous m'apportez. Je vous remercie aussi pour tout votre soutien dans mes différents projets, pour vos encouragements à toutes les étapes de ma vie et dans les moments difficiles, si j'en suis là, c'est grâce à vous, merci.

A Jean-No,

Tu es toujours là pour moi et je sais que je peux compter sur toi. Merci pour tous les bons moments que l'on a pu partager depuis l'enfance et je sais que les années à venir nous en réservent encore pleins d'autres.

A ma grand-mère,

Merci pour ton amour et ton soutien inconditionnel, tu es toujours là pour moi. Merci de m'avoir accueillie avec tout ton amour quand je suis arrivée à Nancy il y a 4 ans, j'ai été heureuse de vivre ces quelques mois chez toi.

A mes grands-parents disparus,

J'aurais aimé que vous soyez là.

A Marguerite, Albert, Laurence, Claire, Inès, Eric,

Je passe toujours de très bons moments chez vous où lors de nos repas de famille, vous m'avez toujours encouragée et soutenue, je vous en remercie.

A Brigitte, Jean-Marie, Sandra, Sébastien,

Que de fourires partagés lors des nombreuses vacances que nous avons passées ensemble, j'espère qu'il y en aura pleins d'autres malgré la distance ! Merci aussi pour votre présence lors des moments plus difficiles.

A Marie-Odile, Jean-Louis, Juliette, Clément,

Je vous retrouve toujours avec beaucoup de plaisir, merci pour votre grande gentillesse.

Et enfin, à mon cher et tendre Martin,

Merci pour ta patience à toute épreuve, sans toi, cette thèse n'aurait sans doute pas aboutie sous ce format. Merci pour ton réconfort et ton soutien sans faille ! A notre amour et à tous nos projets.

A M,

Pour tous les moments partagés (le rock, les virées en voiture sur sol glissant, les restos baskets, les innombrables parties de bataille Corse, l'électrocution dans les douches en Inde, la passion du téléphone en voiture, etc...) et à venir. Tu es toujours là et à l'écoute...Merci.

A Gaëlle,

On n'a pas fait de Delponite aiguë on peut être fières de nous ! Pour ces innombrables conversations au tél, merci les portables ! Ces années d'internat ne nous ont pas éloignées et j'en suis heureuse. L'année prochaine, il faudra réinstaurer une cession ski avec Agathe au club des pioupiou !

A Luçon,

Pour les trajets Saint-Pierre aéroport à 5h du mat, les jeans qui te vont mieux qu'à moi, les rocks et à quand la prochaine choré kuduru ?

Ps : J'étais sure qu'il faudrait attendre ma thèse pour que tu viennes à Nancy !

A Cha,

Que d'aventures passées ensemble à London (merci les pickpockets), la Réunion (merci les frangipaniers) et à l'irish bar de Sanary. J'espère qu'il y aura encore d'autres moments mythiques à Meaux cette fois-ci !

A Clem,

Merci pour tous ces moments partagés autour d'un pinke, d'un jungle speed ou en plongée autonome (A la réunion, je n'avais pas encore le sens de l'orientation...je ne sais pas si je l'ai acquis depuis).

A Alex,

Merci pour les virées au since the cavern, tellement exceptionnel ce Bryan, l'ascension du piton des neiges à 6h du soir et ton côté tellement girly !

A Arthur,

C'était quand même bien ce stage en immuno ! Tu es toujours le bienvenu pour un p'tit plat de légumes !

A Cathy et Nono,

Vive le couteau à pain pour le sauc et les krisprolls, à quand notre prochaine plongée à la Gabinière ?

A Anne-Laure, JB,

la prochaine fois qu'on prendra un train ensemble, il n'y aura pas d'odeur ni d'expectoration douteuse, et pour l'avion il ne sera pas détourné !

A Jo, Laure, Amélie, Lucile, Marie, Arnaud, et mes autres co-internes,

Merci pour ces bons moments passés ensemble, courage pour ceux qui n'ont pas terminé !

A Doroth, Sam, Christophe, Sarah, Philippe, Dimitri, Virginie, Elysée, Claire, Aymeric,

Vive la team de remiremont !

Table des matières

Liste des abréviations....15
Index des illustrations....16
Index des figures....18
Préambule....19
I.Rationnel du travail proposé....20
II.Introduction....21
II.1.Lymphocytes binucléés....21
II.2.Lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés....22
II.3.Syndromes réactionnels....24
II.3.a)Généralités....24
II.3.b)Sclérose en plaque et natalizumab (Tysabri®)....25
Généralités....25
Mode d'action du natalizumab....25
II.4.Syndromes lymphoprolifératifs....26
II.4.a)Leucémie lymphoïde chronique....26
II.4.b)Lymphomes de la zone marginale....27
II.4.c)Leucémie à tricholeucocytes....29
III.Matériels et méthodes....30
III.1.Patients....30
III.2.Frottis sanguins....31
III.2.a)Frottis sanguins : morphologie générale des lymphocytes....31
Petit lymphocyte mature....32
Lymphocyte clivé....32
Lymphoplasmocyte....33
Prolymphocyte....33
Lymphocyte villeux....34
Lymphocyte convoluté....34
Lymphocyte hyperbasophile....35
Lymphocyte monocytoïde....35
Immunoblastes et centroblastes....36
Ombres nucléaires....36
Apoptose....37
III.2.b)Frottis sanguins : caractérisation des lymphocytes binucléés....37
Caractérisation générale des lymphocytes binucléés et pourcentage parmi les

lymphocytes....37
Analyse morphologique des lymphocytes binucléés....40
Autres données biologiques....43
III.3.Analyse des images trouvées dans la littérature....43
IV.Résultats....44
IV.1.Caractéristiques générales des lymphocytes dans les différentes catégories : cellules lymphoïdes autre que les lymphocytes binucléés....44
IV.1.a)Rappel sur l'analyse des critères étudiés....44
IV.1.b)LPLB avec et sans iso 3q (tableau 1, voir annexe 1)....45
IV.1.c)Pathologies réactionnelles (tableaux 2 et 3, voir annexes 2 et 3)....46
IV.1.d)Syndromes lymphoprolifératifs (tableau 4, voir annexe 4)....46
IV.2.Caractéristiques des lymphocytes binucléés dans les différentes catégories....48
IV.2.a)Rappel sur l'analyse des critères étudiés....48
IV.2.b)LPLB avec iso 3q (n=13) (tableau 5, voir annexe 5, images, voir annexe 8)....48
IV.2.c)LPLB sans iso 3q (n=13) (tableau 5, voir annexe 5, images, voir annexe 8)....49
IV.2.d)Pathologies réactionnelles (tableau 6, voir annexe 6, images, voir annexe 8)....51
IV.2.e)Syndromes lymphoprolifératifs (tableau 7, annexe 7, images, voir annexe 8)....55
IV.2.f)Conclusion des résultats....58
LPLB avec et sans iso3q....58
Syndromes réactionnels....59
Syndromes lymphoprolifératifs....59
IV.3.Résultats des cas de la littérature (tableau 8, voir annexe 9)....60
V.DISCUSSION....62
V.1.Conclusion sur la lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés....62
V.2.Conclusion sur les syndromes réactionnels....64
V.3.Conclusion sur les syndromes lymphoprolifératifs....64
V.4.Conclusion générale de notre travail....65
V.5.Reprise des illustrations de la littérature....65
V.5.a)Comparaison à notre étude (tableau 8, annexe 9)....65
V.5.b)Cas de la littérature divergents et origine des LB....68
VI.Perspectives....70
Bibliographie....71
Annexes....78

Liste des abréviations

ADN : acide desoxyribonucléique

BHE : barrière hémato-encéphalique

CD : classe de différentiation

CMV : cytomégalovirus

EBV : virus d'Epstein-Barr

GFHC : Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire

IgH : chaînes lourdes des immunoglobulines

IgS : immunoglobulines de surface

LB : lymphocyte binucléé

LBDGC : lymphome B diffus à grandes cellules

LF : lymphome folliculaire

LLC : leucémie lymphoïde chronique

LM : lymphome du manteau

LP-B : leucémie à prolymphocytes B

LP-T : leucémie à prolymphocytes T

LPLB : lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés

LT : leucémie à tricholeucocytes

LZM : lymphome de la zone marginale

MGG : May-Grünwald-Giemsa

PCR : polymerase chain reaction

SEP : sclérose en plaque

SLP : syndrome lymphoprolifératif

SNC : système nerveux central

VLA-4 : very late activation antigen 4

Index des illustrations

Illustration 1. Morphologie lymphocytaire considérée comme caractéristique au cours de la LPLB (a: lymphocyte binucléé; b: grande cellule lymphoïde à deux nucléoles et renforcements périphériques basophiles).....21
Illustration 2. Caryotype partiel montrant l'isochromosome 3 : i(3)(q10).....23
Illustration 3. Aspect morphologique typique d'un lymphocyte dans une LLC.....26
Illustration 4. Lymphocytes dans un lymphome splénique de la zone marginale.....28
Illustration 5. Tricholeucocyte.....29
Illustration 6. Petit lymphocyte mature.....32
Illustration 7. Lymphocyte clivé.....32
Illustration 8. Lymphoplasmocyte. 33
Illustration 9. Prolymphocyte.....33
Illustration 10. Lymphocyte villeux.....34
Illustration 11. Lymphocytes convolutés.....34
Illustration 12. Lymphocyte hyperbasophile (cellule mononucléée).....35
Illustration 13. Lymphocyte hypebasophile (gauche) et lymphocyte monocytoïde (droite).....35
Illustration 14. Centroblaste.....36
Illustration 15: Ombres nucléaires. 36
Illustration 16. Figure d'apoptose.....37
Illustration 17. Lymphocytes binucléés « typiques ».....38
Illustration 18. Lymphocyte réniforme.....38
Illustration 19. Lymphocyte binucléé « atypique ».....39
Illustration 20. Lymphocyte binucléé « atypique ».....39
Illustration 21. Lymphocyte binucléé atypique et typique.....39
Illustration 22. Lymphocyte binucléé typique de petite taille, surface cytoplasmique faible, basophilie moyenne présentant un pont polaire épais.....41
Illustration 23. Lymphocyte binucléé de taille moyenne, surface cytoplasmique étendue, basophilie faible présentant un pont polaire fin.....41
Illustration 24. Lymphocyte binucléé de taille moyenne, surface cytoplasmique étendue, basophilie moyenne, vacuolé.....41
Illustration 25. Lymphocyte binucléé de grande taille, surface cytoplasmique très étendue, basophilie moyenne.....42
Illustration 26. Lymphocyte binucléé variant.....61
Illustration 27. Un lymphocyte monocytoïde et 3 LB variants.....62
Illustration 28. Lymphocyte binucléé.....66

Illustration 29. Lymphocyte binucléé.....66
Illustration 30. lymphocytes monocytoïdes dans la LPLB.....67
Illustration 31. Lymphocyte binucléé et monocytoïde dans la LPLB.....67

Index des figures

Figure 1: Répartition de la taille des LB dans la LPLB.....50
Figure 2: Répartition de la surface du cytoplasme des LB dans la LPLB.....50
Figure 3: Répartition de la basophilie du cytoplasme des LB dans la LPLB.....50
Figure 4: Répartition du contenu cytoplasmique des LB dans la LPLB.....50
Figure 5: Répartition des différentes formes de noyaux des LB dans la LPLB.....51
Figure 6: Répartition des LB avec ou sans nucléoles dans la LPLB.....51
Figure 7: Répartition des lobes des LB dans la LPLB.....51
Figure 8: Répartition de la taille des LB dans la SEP.....53
Figure 9: Répartition de la surface du cytoplasme des LB dans la SEP.....53
Figure 10: Répartition de la basophilie du cytoplasme des LB dans la SEP.....53
Figure 11: Répartition du contenu cytoplasmique des LB dans la SEP.....53
Figure 12: Répartition des différentes formes de noyaux des LB dans la SEP.....54
Figure 13: Répartition des LB avec ou sans nucléoles dans la SEP.....54
Figure 14: Répartition des lobes des LB dans la SEP.....54
Figure 15: Répartition de la taille des LB dans les SLP.....56
Figure 16: Répartition de la surface du cytoplasme des LB dans les SLP.....56
Figure 17: Répartition de la basophilie du cytoplasme des LB dans les SLP.....57
Figure 18: Répartition du contenu cytoplasmique des LB dans les SLP.....57
Figure 19: Répartition des différentes formes de noyaux des LB dans les SLP.....57
Figure 20: Répartition des LB avec ou sans nucléoles dans les SLP.....57
Figure 21: Répartition des lobes des LB dans les SLP.....58

Préambule

La lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés (LPLB) est une atteinte rare et mal connue.

Les données proviennent avant tout de malades français (environ 120). Elles ont été rassemblées par le Pr Xavier Troussard (CHU Caen) et ses collaborateurs du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC) depuis 1994.

A partir de 1998, date du premier diagnostic local, plus de 60 malades lorrains ont été suivis au CHU de Nancy, constituant la plus grande cohorte de LPLB connue. Aussi, une thématique a été instituée visant à mieux comprendre et caractériser cette entité.

Les caractéristiques cliniques et biologiques ont fait l'objet d'une première thèse en 2009 par Johanna Sokolowska. Les caractéristiques immunologiques (phénotype) ont été développées ensuite dans la thèse de Laure Marchal en 2012. Notre travail a pour but de préciser la morphologie de la cellule éponyme, dans la mesure où il est apparu avec le recul que sa spécificité pouvait être mise en doute et que ses caractéristiques morphologiques pouvaient varier.

I. Rationnel du travail proposé

Les lymphocytes binucléés (LB) sont considérés comme des cellules caractéristiques d'une entité récemment décrite, la lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés (LPLB). S'ils sont retrouvés principalement dans cette entité, la présence de ces cellules a cependant été décrite dans d'autres pathologies, en particulier des syndromes lymphoprolifératifs (SLP) B tels que la leucémie lymphoïde chronique (LLC) (Lanson et al, 2011), la leucémie à tricholeucocytes (LT) (Troussard et al, 1997), le lymphome de la zone marginale (LZM) (Samson et al, 2002), certains syndromes réactionnels bénins et au cours des scléroses en plaque (SEP) après traitement par natalizumab (Leclerc et al, 2011).

Le but du travail a été de tester la spécificité des lymphocytes binucléés (sont-ils vraiment spécifiques d'une pathologie ?) et donc de commencer d'abord par tenter de décrire le plus précisément possible la morphologie de ces cellules au cours des LPLB, ensuite de comparer les critères obtenus à ceux constatés au cours d'autres pathologies, et, enfin de reprendre la littérature consacrée à ce sujet afin d'évaluer nos hypothèses.

Pour cela, nous avons disposé d'une cohorte de patients dont le point commun était la présence de LB sur le frottis. Quel que fût le diagnostic retenu, nous avons regardé plus particulièrement :

1/ Existe-t-il des critères morphologiques spécifiques pour définir les cellules binucléées ?

2/ Si oui, les cellules binucléées différentent-elles entre LPBL, SLP, et pathologies réactionnelles ?

3/ Si on regarde l'ensemble des cellules lymphoïdes, existe-t-il des présentations morphologiques caractéristiques (association de types cellulaires) ?

En l'absence de données précises de référence (« gold standard ») nous avons du confronter préalablement les expériences de cytologistes particulièrement impliqués dans l'étude de SLP et reprendre la lecture de plusieurs dizaines de frottis sanguins.

II. Introduction

II.1. Lymphocytes binucléés

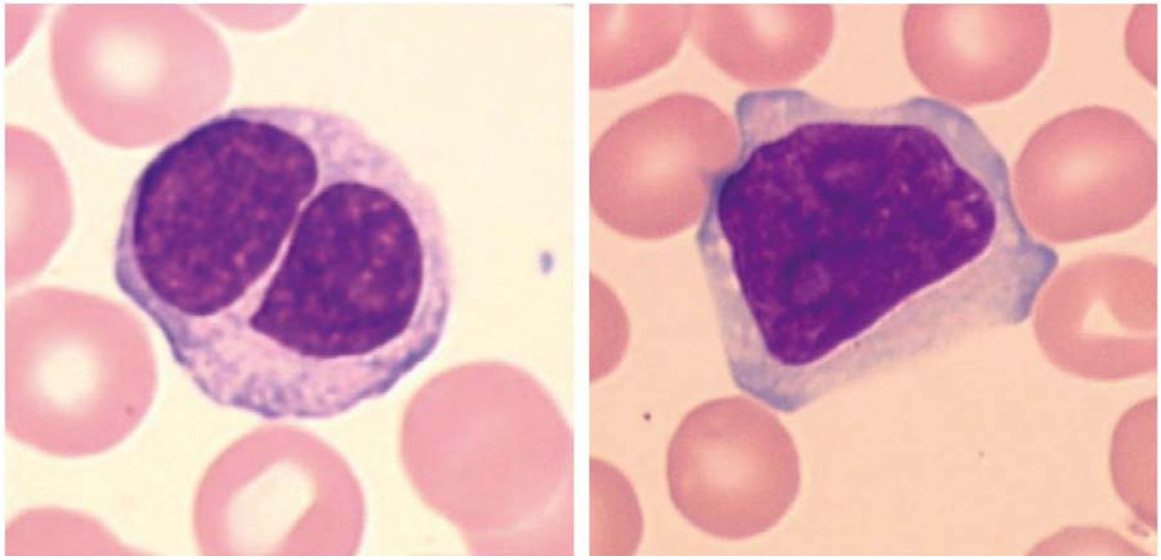


Illustration 1. Morphologie lymphocytaire considérée comme caractéristique au cours de la LPLB (a: lymphocyte binucléé; b: grande cellule lymphoïde à deux nucléoles et renforcements périphériques basophiles).

D'après Lesesve et al, 2008a.

Les LB sont des cellules lymphoïdes considérées comme caractéristiques de la LPLB. Mais ils ne constituent qu'une fraction mineure des cellules lymphoïdes observées sur les frottis des patients (entre 1 et 10%) (Troussard et al, 2002). Par ailleurs, ces cellules ont également été observées ponctuellement dans d'autres pathologies malignes telles que les SLP (LLC, LT, LNH), des syndromes réactionnels en particulier viraux (virus d'Epstein Barr (EBV), cytomégalovirus (CMV)), ou chez des patients atteints de SEP et traités par natalizumab. La présence de LB au sein de la population lymphocytaire n'est donc pas totalement spécifique de la LPLB. Aucun travail n'a été consacré spécifiquement à ces cellules. Ceci s'explique premièrement par leur rareté (côté anecdotique au sein d'une population hyperbasophile par exemple) ; deuxièmement par leur « prétendue » association « de fait » à la LPLB.

Or cette spécificité morphologique ne va pas de soi comme nous venons de le dire. Il est d'ailleurs étonnant qu'aucune publication n'ait approfondi la morphologie de ces LB, en particulier au cours des LPLB. En effet l'expérience de deux morphologistes (Pr Troussard, Dr Lesesve) cumulant probablement le plus grand nombre de cas analysés est en faveur d'une certaine hétérogénéité de présentation. Notre travail a eu pour but d'approfondir ce point.

II.2. Lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés

La LPLB a été décrite pour la première fois aux Etats-unis par Gordon et al (1982). Elle est rencontrée principalement chez les femmes, jeunes, fumeuses. La lymphocytose est considérée comme absolue ($\geq 5\times10^9$/L), durable (≥ 3 mois) et polyclonale (Carstairs et al, 1985). L'examen du frottis sanguin montre dans tous les cas la présence de lymphocytes binucléés en un pourcentage variable, mais minoritaires par rapport à celui des lymphocytes « non binucléés ». Le tableau clinique trouve une asthénie fréquente, parfois un syndrome polyalgique, un contexte d'auto-immunité, une splénomégalie modérée serait présente dans 10 % des cas, rarement on observe une hépatomégalie ou des adénopathies (Troussard et al, 2008). L'hémogramme indique une lymphocytose absolue, entre 5 et 10 G/L le plus souvent. L'examen cytologique du frottis sanguin montre des cellules lymphoïdes dont les aspects morphologiques sont hétérogènes. Un pourcentage variable (1 à 10%) de lymphocytes à deux noyaux est détecté. Ces lymphocytes binucléés sont accompagnés par d'autres cellules lymphoïdes de taille variable présentant des noyaux à contours plus ou moins réguliers (Troussard et al, 2008). La chromatine nucléaire est toujours condensée, avec un petit nucléole parfois visible. Nous avons donc souhaité vérifier et compléter ces données. La présence de LB n'est pas observée chez les individus sains, et n'a été décrite dans une série qu'après une irradiation à basses doses (Roy-Taranger et al, 1965). L'immunophénotypage montre que la lymphocytose est constituée de cellules B exprimant les classes de différenciation (CD) CD19, CD20, et CD22 mais CD5- (rarement CD5+) et le plus souvent CD10-. Le caractère polyclonal est affirmé par l'expression des chaînes légères kappa et lambda aussi bien dans les cellules binucléées que non binucléées (Mossafa et al, 1999). Elles co-expriment également les immunoglobulines de surface de type IgM et IgD, ainsi que le CD27 (Loembe et al, 2002). Ce phénotype a fait suggérer une origine B mémoire à ces cellules (Del Giudice et al, 2009).

L’association de LPLB au phénotype HLA-DR7 est forte (2/3 des cas). Si on ajoute à cela le fait que la LPLB peut survenir chez des membres asymptomatiques d’une même famille, l’hypothèse d’une prédisposition génétique pourrait être envisagée. La description de la LPLB chez des jumelles identiques (Carr et al, 1997) ainsi que sa présence chez un frère et une sœur (Himmelmann et al, 2001) ou chez une mère et sa fille (Lesesve et al, 2011a) renforcent cette hypothèse, ainsi que la détection de multiples réarrangements BCL-2/IgH parmi les individus apparentés au premier degré avec les patients LPLB (Delage et al, 2001). Enfin, des anomalies chromosomiques récurrentes ont été observées chez plus de 75% des patients : isochromosome +i(3)(q10) surnuméraire associé ou non à la présence d’un phénomène de condensation prématurée des chromosomes (PCC) et/ou une instabilité chromosomique (Mossafa et al, 1996, Callet-Bauchu et al, 1997). Cet iso3q constitue pour l'instant la certitude du diagnostic. Néanmoins, il n'est observé que chez environ 2/3 des malades.



Illustration 2. Caryotype partiel montrant l’isochromosome 3 : i(3)(q10). D'après Mossafa et al, 1999.

La (les) cause(s) de la LPLB reste(nt) incertaine(s). Une association avec le tabagisme a été suggérée d’emblée par Carstairs et al (1985), décrivant 4 patientes fumeuses, dont une a retrouvé une numération lymphocytaire normale après arrêt du tabac. Dans la série du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire, seulement une patiente n’a jamais fumé. Par contre, dans une série de 30 témoins fumeuses, il n’y a eu aucun cas de lymphocyte binucléé détecté (Troussard et al, 1996).

Le risque d’évolution de la LPLB vers une pathologie maligne est mal connu. Le suivi à long terme, rarement mentionné, montre que les patients restent stables cliniquement et biologiquement le plus souvent (Cornet et al, 2009). Parfois, la lymphocytose et la présence de LB

baissent progressivement suivant l'arrêt du tabac, mais là encore, le nombre des cas documentés est très faible. Quelques patients développent une gammapathie monoclonale d'origine indéterminée (MGUS). L'émergence d'une subpopulation clonale reste possible, et, dans la série du GFHC (Cornet et al, 2009) 3 patients sur 111 ont présenté une évolution vers un LNH : 2 lymphomes diffus à grandes cellules et 1 LZM. Or, on peut également observer des cas de LZM avec quelques binucléations. Un registre (observatoire) national en cours permettra de clarifier l'éventuelle survenue accrue de cancers (promoteur : Délégation à la recherche clinique et l'innovation, CHU Nancy 2012).

II.3. Syndromes réactionnels

II.3.a) Généralités

Des LB ont été mis en évidence dans divers états réactionnels et plus particulièrement dans l'infection par le virus d'Epstein-Barr (EBV). Chow et al (1992) rapportent le cas d'une patiente qui présente une lymphocytose B polyclonale persistante avec LB. Il a été trouvé en outre des anticorps de types IgG anti-VCA et anti-EBNA positifs, ce qui est significatif d'une infection ancienne à EBV et la présence d'acide désoxyribonucléique (ADN) de l'EBV a été mise en évidence dans les lymphocytes par technique polymerase chain reaction (PCR). Ceci a été confirmé par Jaubert et al (1997) par le cas d'une patiente qui présentait une hyperlymphocytose entre 4 et 7,9 G/L avec, sur le frottis, 2 à 15 % de LB. Parallèlement la sérologie de l'EBV a été retrouvée négative en IgM mais positive en IgG avec des taux compatibles avec une infection persistante et on a retrouvé la présence du génome de l'EBV dans les lymphocytes sanguins par PCR. Cela montre qu'il existe un lien potentiel entre la présence de l'EBV et les LB qui nécessite d'être approfondi par l'étude morphologique des LB.

II.3.b) Sclérose en plaque et natalizumab (Tysabri®)

- **Généralités**

La présence de LB a été aussi décrite chez des patients atteints de SEP traités par natalizumab. La SEP est une affection neurologique inflammatoire chronique qui implique les lymphocytes T. Ceux-ci sont dirigés contre plusieurs antigènes du système nerveux central (SNC), notamment la protéine basique de la myéline ou MBP (myelin basic protein). Il est important de rappeler que normalement les cellules sanguines ne franchissent pas la barrière hémato-encéphalique (BHE), mais dans le cas de la SEP, les vaisseaux sanguins et le SNC sont dans un état inflammatoire, ce qui engendre une perméabilité de la BHE. Les lymphocytes T CD4+ activés et exprimant l'intégrine α4β1 à leur surface, vont ainsi se lier aux molécules d'adhérence des cellules vasculaires de la surface de l'endothélium, ce qui engendre leur sortie du vaisseau sanguin. Il se produit alors une véritable infiltration par les lymphocytes T et autres macrophages activés, l'inflammation est exacerbée et le recrutement des lymphocytes T et B, macrophages et autres cellules dendritiques se poursuit. Parallèlement, des anticorps dirigés contre les antigènes de la myéline sont produits par les lymphocytes B activés afin de démyéliniser progressivement les axones des neurones du SNC.

- **Mode d'action du natalizumab**

Le natalizumab est indiqué en monothérapie comme traitement de fond des formes d'évolution sévère et rapide de la maladie (2 poussées invalidantes ou plus par an) ou des formes très actives de la SEP rémittente-récurrente résistantes à un traitement par interférons β chez des patients âgés de 18 ans ou plus. Il s'agit d'un anticorps monoclonal anti-α4-intégrine humanisé recombinant. L'intégrine α4β1 ou VLA-4 (very late activation antigen 4) est une molécule que l'on retrouve à la surface des leucocytes à l'exception des polynucléaires neutrophiles. Par cette intermédiaire, il inhibe l'interaction entre le VLA-4 et la molécule d'adhésion vasculaire 1, exprimée sur les cellules endothéliales. Cette interaction contrôlerait l'adhésion et la migration des leucocytes à travers la BHE. Ce mécanisme aurait pour effet de diminuer l'inflammation du SNC dans la SEP (Putzki et al, 2010) mais il a aussi pour effet de provoquer une hyperlymphocytose avec lymphocytes binucléés dont la morphologie lymphocytaire n'a pas encore été approfondie (Leclerc et al, 2011). Nous nous sommes donc interrogés sur une éventuelle relation avec les LB

retrouvés dans la LPLB et l'étude morphologique précise de ces LB jamais faite auparavant s'est révélée nécessaire pour mieux comprendre leur présence dans ce cas.

II.4. Syndromes lymphoprolifératifs

Plusieurs entités semblent concernées par la présence (rare) de LB, la revue de la littérature mentionne leur présence plus particulièrement dans la LLC,les LZM et la LT.

II.4.a) Leucémie lymphoïde chronique

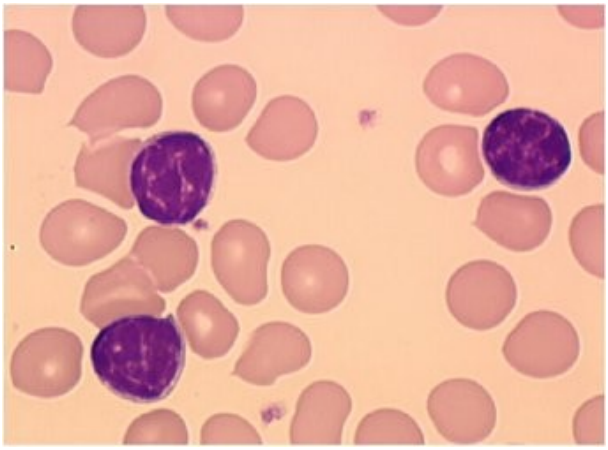


Illustration 3. Aspect morphologique typique d'un lymphocyte dans une LLC. D'après Troussard et al, 2007.

La LLC est le SLP chronique le plus fréquent. Elle est définie par une lymphocytose absolue (> 5 G/L), durable, avec à l'examen du frottis sanguin des cellules matures de petite taille. Le score immunologique RMH de « Matutes » établi sur 5 critères (positivité du CD5 et du CD23, négativité du FMC 7 et expression faible ou négative des immunoglobulines de surface (IgS) et du CD22 ou du CD79b) est de 4 ou 5 (Matutes et al, 1994). L'examen du frottis sanguin identifie des cellules lymphoïdes de petite taille, avec un noyau entouré d'un anneau de cytoplasme, bien visible, quoiqu 'assez peu étendu. Le plus souvent sur une partie seulement de la circonférence le noyau a un contour régulier, même si de petites irrégularités peuvent communément se voir. Le cytoplasme est homogène, faiblement basophile et dépourvu de grain. Le rapport nucléocytoplasmique est élevé. La chromatine présente des renforcements sombres nettement

séparés par des espaces plus clairs, donnant l'impression de mottes chromatiniennes. Les nucléoles ne sont pas ou peu visibles (Lanson et al, 2011). Des cellules de plus grande taille, à noyau plus immature, avec un nucléole bien visible, correspondant à des prolymphocytes, sont parfois observées mais leur nombre reste habituellement limité. Dans un article récent, Lanson et al (2011) décrivent le cas d'un patient présentant une LLC avec une morphologie atypique caractérisée par la présence de nombreux LB posant le problème du diagnostic différentiel avec une LPLB. Dans ce cas, les LB représentaient 5 % des lymphocytes totaux, et, les ombres de Gumprecht 21 % des cellules lymphoïdes. Les LB ne présentaient pas de pont chromatinien. Précédemment, Amouroux et al (1997) avaient présenté des cas de LLC présentant des LB de taille moyenne, à cytoplasme faiblement basophile, dont quelques uns présentent un pont chromatinien. Ces cas de LLC avec LB remettent en cause la spécificité des LB au cours de la LPLB et indiquaient déjà des critères variables d'un cas à l'autre (ponts chromatiniens).

II.4.b) Lymphomes de la zone marginale

Les LZM font partie d'un groupe de lymphomes dont les cellules anormales sont issues de lymphocytes B normalement présents dans la zone marginale des follicules lymphoïdes secondaires (Thieblemont et al, 1998). Ils sont d'abord définis comme une entité provisoire dans la classification révisée européenne et américaine (REAL), puis comme une entité distincte dans la classification de l'Organisation mondiale de la santé (OMS). L'International Lymphoma Study Group a distingué trois sous-groupes de lymphomes de la zone marginale, en fonction de leurs sites d'envahissement :

- Les lymphomes extraganglionnaires de la zone marginale ou lymphomes du MALT
- Les lymphomes spléniques de la zone marginale (avec ou sans lymphocytes villeux)
- Les lymphomes ganglionnaires (avec ou sans cellules monocytoïdes)

Parmi les lymphomes non Hodgkiniens de l'adulte, on trouve 5 % à 17 % de LZM. La plupart des diagnostics se font chez des patients de plus de 60 ans.

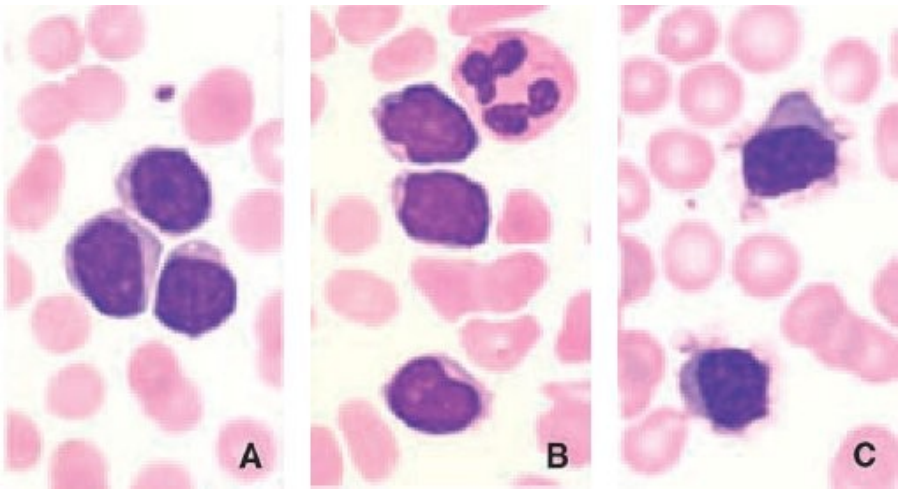


Illustration 4. Lymphocytes dans un lymphome splénique de la zone marginale.

D'après Thieblemont et al, 2008.

A : Trois lymphocytes avec une chromatine dense et des petits noyaux.

B : Lymphocytes avec noyaux encochés.

C : Lymphocytes villeux typiques.

L'origine cellulaire est une cellule B issue d'un lymphocyte B-mémoire de la zone marginale du follicule secondaire. Au niveau cytologique, les cellules lymphoïdes sont pléïomorphes avec des petits lymphocytes, des lymphocytes de type centrocytes et/ou des lymphocytes villeux. La présence dans le sang de lymphocytes villeux à un taux supérieur à 20 % des lymphocytes B circulants définit le lymphome splénique avec lymphocytes villeux, considéré comme phase leucémique du LNH splénique de la zone marginale.

Par rapport à la description « princeps », on remarque souvent un polymorphisme avec des cellules à tendance lymphoplasmocytaire, voir quelques plasmocytes et des cellules lymphoïdes matures un peu plus grandes aux contours déformés.

Les lymphocytes présents dans les LZM sont des lymphocytes B. Ils ont un profil immunophénotypique qui comprend l'expression des marqueurs suivants : Ig M+D, CD 20. les marqueurs CD5, CD10, CD23, CD43 sont absents.

Dans la littérature, on retrouve un cas de LZM présentant des LB (Samson et al, 2002). Le patient présentait une lymphocytose à 9,53 G/L. Le frottis coloré au MGG mettait en évidence une

majorité de petits lymphocytes matures et 35 % de cellules atypiques. La population lymphocytaire comprenait 20 % de LB, ce qui encore une fois met en doute la spécificité de ces cellules au sein de la LPLB.

II.4.c) Leucémie à tricholeucocytes

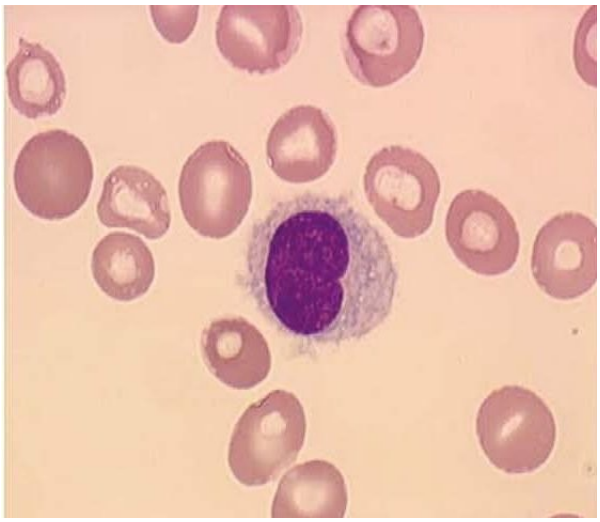


Illustration 5. Tricholeucocyte.
D'après Troussard et al, 2010.

La leucémie à tricholeucocytes est un SLP B rare qui représente 2 % de l'ensemble des leucémies. Elle est plus fréquente chez l'homme (8 fois sur 10) à partir de 50 ans et est caractérisée par la présence d'une splénomégalie dans 3 cas sur 4 et l'absence d'adénopathie superficielle (Troussard et al, 2010). Elle est souvent découverte à l'hémogramme par une neutropénie et/ou une monocytopénie. Le diagnostic est basé sur l'identification des tricholeucocytes dans le sang, la moelle ou la rate. L'hémogramme montre une pancytopénie, parfois seulement une neutropénie, une thrombopénie ou une anémie souvent discrètement macrocytaire. Il existe une monocytopénie à évaluer sur le frottis car pourtant les automates confondent souvent les tricholeucocytes avec les monocytes et rendent des chiffres de monocytes surévalués.

A l'examen du frottis, on retrouve des lymphocytes chevelus, de grande taille, de cytoplasme étendu, faiblement basophile et à fines projections. Le rapport nucléo-cytoplasmique est bas et le

noyau souvent excentré. Ce dernier peut être ovale, arrondi ou réniforme. La chromatine nucléaire est finement dispersée et le nucléole peu ou pas visible est de petite taille et souvent unique.

Troussard et al (1997a) ont trouvé des morphologies lymphocytaires proches de ces tricholeucocytes dans une série de patients étiquetés LPLB. A la lecture de ces morphologies « frontières », en particulier au cours des LLC et des LZM, une description plus précise des LB semble nécessaire afin de dégager d'éventuels critères caractéristiques des LB et tenter d'établir un lien entre ces LB et les différentes pathologies observées.

III. Matériels et méthodes

III.1. Patients

Nous avons étudié plusieurs séries de malades.

Des patients atteints de LPLB (n=26) issus de deux cohortes (Nancy et Caen) que nous avons séparé en 2 catégories : présence d'un iso3q, n=13 et absence de l'iso3q (n=13).

Nous avons séparé la catégorie syndromes réactionnels (n=44) en 2 sous-catégories. La première regroupe 4 syndromes réactionnels (de cause non déterminée). La seconde sous-catégorie représente 31 patients atteints de SEP et traités par natalizumab (Lesesve et al, 2011b ; Siri et al, 2013) et 9 patients non traités par natalizumab.

Enfin, une série de SLP (n=17) conservée en mémoire depuis 3 ans a été exploitée :

- LLC, n=6
- LZM, n=3
- Waldenström, n=2
- LCM, n=1
- LF, n=1
- LBDGC, n=1
- Lymphome T, n=1

- LP B, n=1
- LP T, n=1

Elles n'ont malheureusement aucun caractère systématique ou exhaustif.

III.2. Frottis sanguins

Les frottis sanguins ont été réalisés de manière habituelle à partir de sang veineux périphérique prélevé sur tube éthylène diamine tétracétique (Vacutainer Becton Dickinson K3, Le Pont-De-Claix, France), et étalés sur une lame de verre selon les procédures habituelles. Les frottis ont été colorés par la technique May-Grünwald-Giemsa (MGG). Ils ont ensuite été observés au microscope (Leica DM 3000, Rueil Malmaison, France).

III.2.a) Frottis sanguins : morphologie générale des lymphocytes

Nous avons d'abord observé la morphologie générale des lymphocytes. Pour cela, nous avons pris en considération des paramètres d'ordre général fournis par l'hémogramme : hémoglobine, numération plaquettaire, numération des globules blancs, lymphocytes (valeur absolue). Ensuite, nous avons établi 13 critères relatifs à la forme des lymphocytes pour voir s'il y avait une morphologie lymphocytaire prédominante dans le but de la relier éventuellement à la pathologie du patient : lymphocytes matures (petits, banals), clivés (petits centrocytes), lymphoplasmocytes, lymphocytes monocytoïdes, prolymphocytes, lymphocytes en fleur, convolutés (grand lymphocyte clivé, grand centrocyte), « stimulés » (grand lymphocyte hyperbasophile), centroblastes ou immunoblastes, lymphocytes chevelus (villosités membranaires), ombres nucléaires, mitoses, images d'apoptose. Pour chaque critère étudié, nous avons exprimé nos résultats en données semi-quantitatives. Cinq résultats étaient possibles pour caractériser les lymphocytes :

- - : aucun lymphocyte ne correspond à ce critère
- + : 1 à 33 % des lymphocytes
- ++ : 34 à 66 % des lymphocytes
- +++ : 66 à 99 % des lymphocytes
- ++++ : 100 % des lymphocytes

Les définitions de ces cellules restent subjectives malgré des critères admis depuis longtemps (classification des lymphomes et SLP depuis les années 80). Nous avons établi une base documentaire à laquelle nous nous sommes référés, en voici quelques extraits.

- **Petit lymphocyte mature**

La taille de ce lymphocyte est un peu plus grande qu'une hématie, le noyau est dense non nucléolé et le cytoplasme est peu abondant, de basophilie faible (illustration 6).

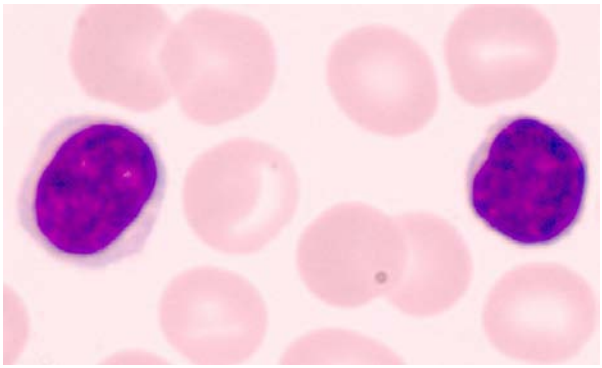


Illustration 6. Petit lymphocyte mature.

- **Lymphocyte clivé**

Le lymphocyte clivé est un petit centrocyte mature proche du petit lymphocyte mature, à peine plus grand, caractérisé par une encoche nucléaire bien visible (illustration 7).

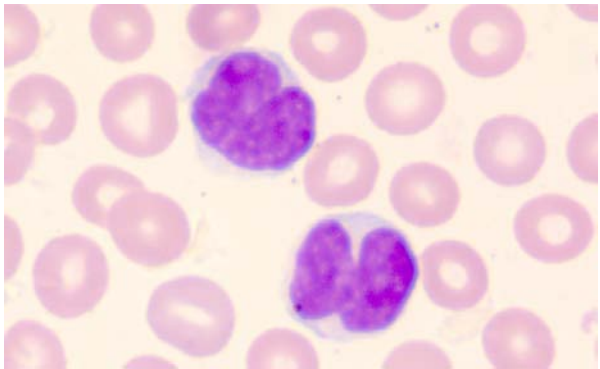


Illustration 7. Lymphocyte clivé.

- **Lymphoplasmocyte**

Le lymphoplasmocyte est une cellule à peine plus grande que le lymphocyte mature. Le noyau est excentré, sa chromatine est dense et il ne présente pas de nucléole. Le cytoplasme est moyennement basophile (illustration 8).

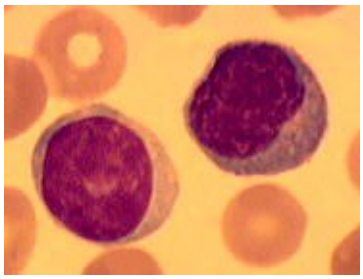


Illustration 8. Lymphoplasmocyte.
D'après fmc.med.univ-tours.fr

- **Prolymphocyte**

Le prolymphocyte est une cellule plus grande (entre 2 et 3 hématies), mature. Un nucléole unique est bien visible, plutôt central. Le cytoplasme est plus abondant que celui du petit lymphocyte mature et de basophilie faible à modérée (illustration 9).

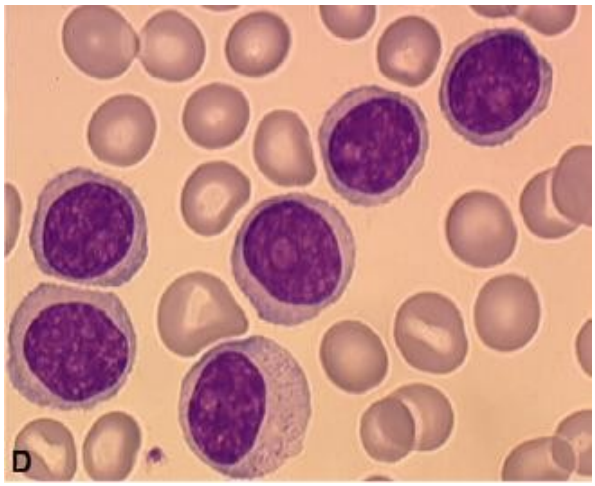


Illustration 9. Prolymphocyte.
D'après Troussard et al, 2007.

- **Lymphocyte villeux**

Il s'agit d'une cellule de petite taille dont le noyau est mature. Le cytoplasme est étendu avec des villosités marquées (« polaires ») facilement observables et de basophilie faible à modérée (illustration 10).

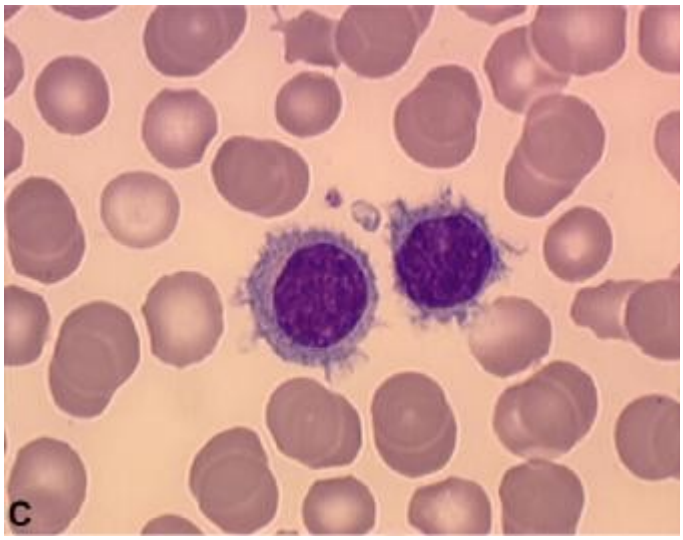


Illustration 10. Lymphocyte villeux.
D'après Troussard et al, 2007.

- **Lymphocyte convoluté**

Le lymphocyte convoluté est une cellule de taille moyenne entre 2 et 3 hématies à noyau d'aspect cérébriforme, de cytoplasme faiblement étendu et de basophilie faible (illustration 11).

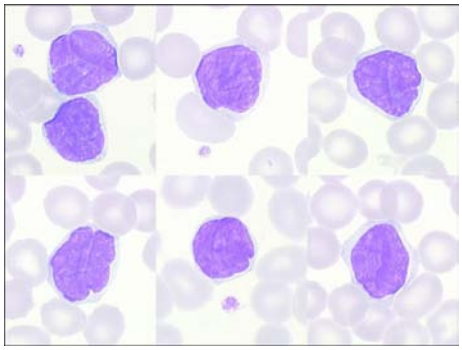


Illustration 11. Lymphocytes convolutés.
D'après Tessier-Marteau et al, 2008.

- **Lymphocyte hyperbasophile**

Le lymphocyte est de taille moyenne à grande (≥ 2 hématies). Le noyau est mature mais soit globalement discoïde, soit plus déformé. Le cytoplasme est étendu et de basophilie moyenne à intense avec des renforcements périphériques (illustration 12).

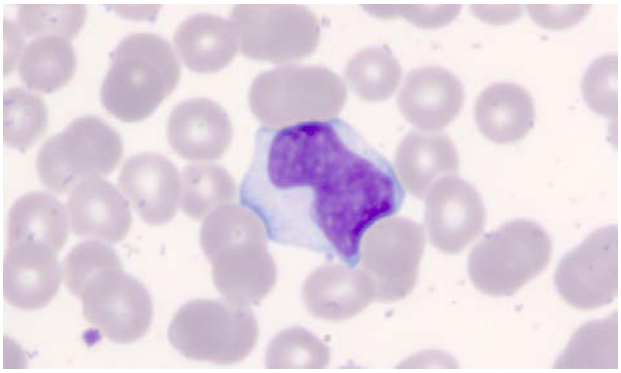


Illustration 12. Lymphocyte hyperbasophile (cellule mononucléée).

- **Lymphocyte monocytoïde**

Le lymphocyte monocytoïde est de taille moyenne à grande. Son noyau est mature mais la chromatine peut parfois être décondensée, il est souvent déformé (pincé mais pas clivé). Le cytoplasme est étendu (voir très étendu) et de basophilie faible à moyenne (illustration 13).

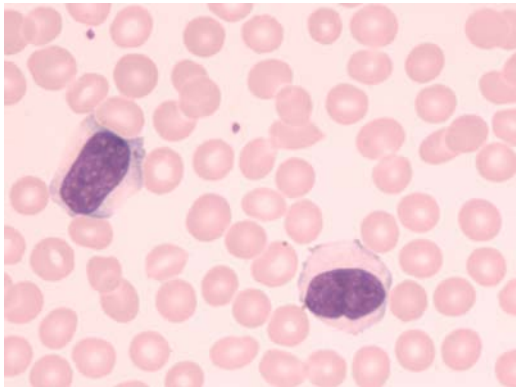


Illustration 13. Lymphocyte hypebasophile (gauche) et lymphocyte monocytoïde (droite).

- **Immunoblastes et centroblastes**

Ce sont des cellules de grande taille. Le noyau est volumineux et présente un nucléole (immunoblaste) le plus souvent central, ou plusieurs nucléoles (centroblastes) souvent périphériques. Le cytoplasme est de basophilie intense (illustration 14).

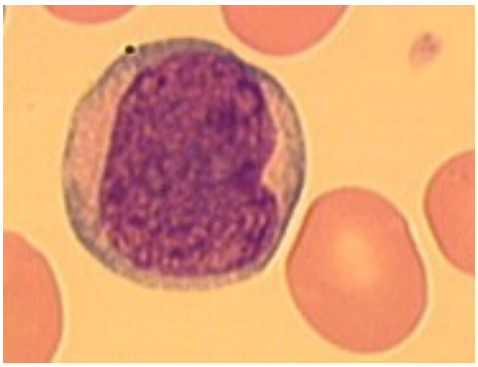


Illustration 14. Centroblaste.
D'après fmc.med.univ-tours.fr.

- **Ombres nucléaires**

Les ombres nucléaires sont le reflet d'une certaine fragilité cellulaire. Elles sont appelées ombres de « Gümprecht » au cours de la LLC (illustration 15).

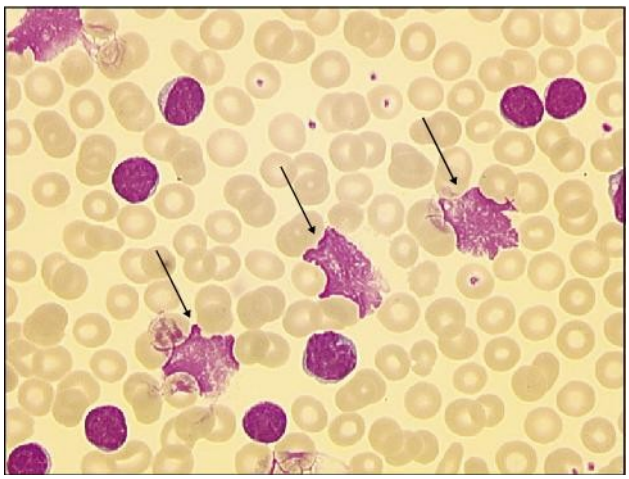


Illustration 15: Ombres nucléaires.
D'après Janel et al, 2009.

- **Apoptose**

L'apoptose est une mort cellulaire programmée avec rétraction du noyau (à chromatine hypercondensée) puis fragmentation et vacuolisation cytoplasmique (illustration 16).

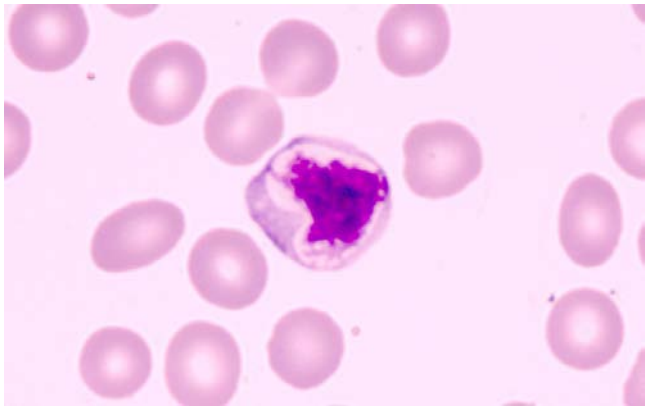


Illustration 16. Figure d'apoptose.

III.2.b) Frottis sanguins : caractérisation des lymphocytes binucléés

- **Caractérisation générale des lymphocytes binucléés et pourcentage parmi les lymphocytes**

Concernant les LB, deux critères ont été notés à ce stade : pourcentage et proportion de cellules « typique/atypique » (un travail préalable avait consisté à tenter d'établir les critères semblant les plus reproductibles au cours des LPLB). L'immunophénotypage des lymphocytes T, B, NK a été pris en compte. Enfin, les diagnostics supposés (après examen du frottis) et vérifiés (après intégration de l'ensemble des éléments du dossier et consultation du dossier médical) ont été intégrés pour l'analyse des données.

Les lymphocytes binucléés « typiques » (hypothèse à vérifier) sont des lymphocytes lobés dont les 2 lobes sont asymétriques reliés par un pont pas toujours visible (illustration 17).

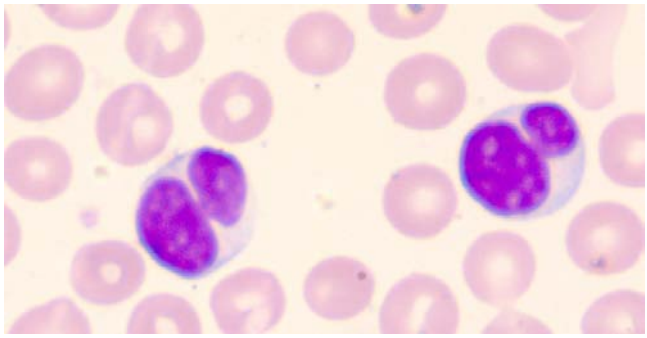


Illustration 17. Lymphocytes binucléés « typiques ».

Les lymphocytes à noyau réniforme présentent des lobes reliés par un pont large (illustration 18).

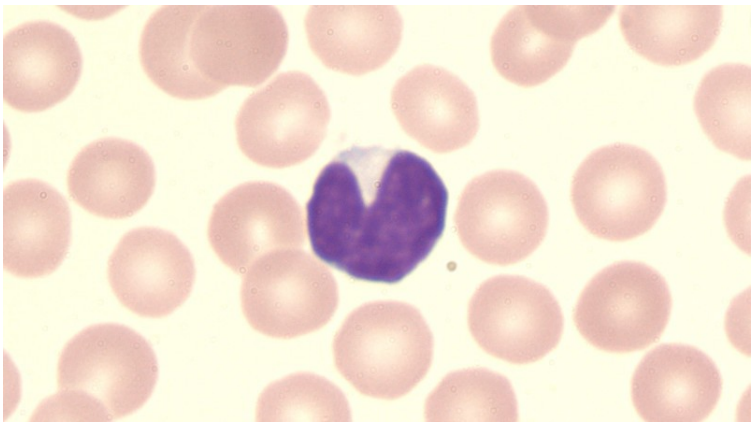


Illustration 18. Lymphocyte réniforme.

Les lymphocytes binucléés « atypiques » sont des lymphocytes dont le pont est mal individualisé, les lobes sont déformés (illustrations 19, 20, 21). Ils tendent vers des formes réniformes, voir monocytoïdes.

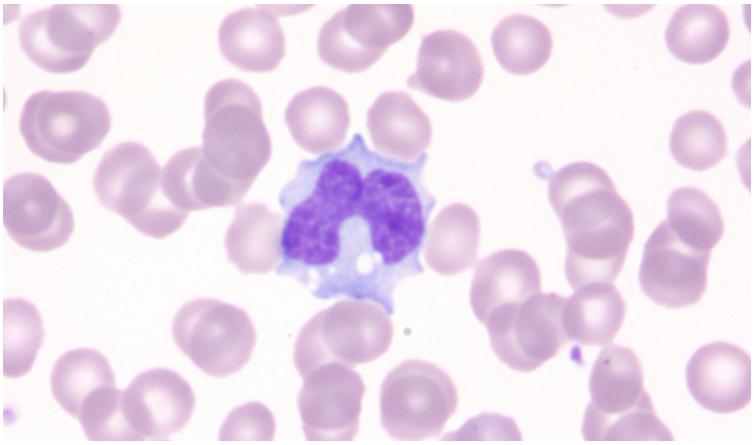


Illustration 19. Lymphocyte binucléé « atypique ».

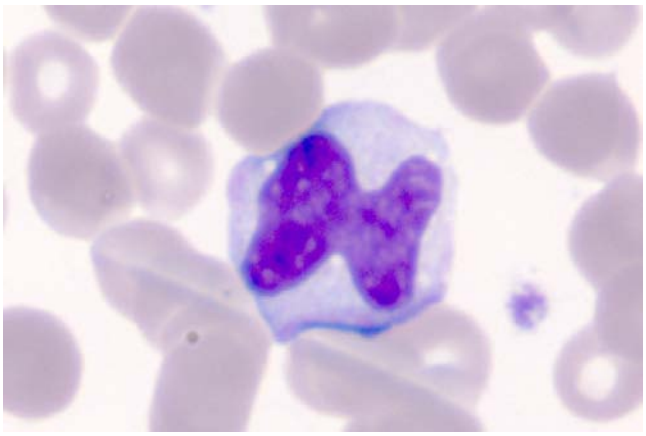


Illustration 20. Lymphocyte binucléé « atypique ».

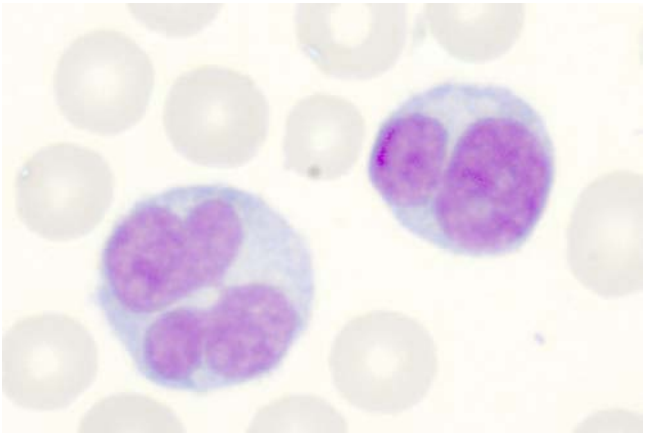


Illustration 21. Lymphocyte binucléé atypique et typique.

- **Analyse morphologique des lymphocytes binucléés**

Pour analyser plus particulièrement la morphologie des LB, les cellules binucléées et les cellules d'aspect proche ont été ensuite numérisées au moyen d'une caméra numérique (Leica 490 DFC, Her Brugg, Suisse) et les images sauvegardées sur ordinateur (logiciel LAS Leica, Bensheim, Allemagne), avec des images enregistrées en format TIFF, x300 dpi. Les cellules ont été capturées en continu (« bandes horizontales sur le frottis ») de manière à limiter les biais de sélection en accord avec des expériences de numérisation précédentes (Lesesve et al 2008b, Lesesve et al, 2009).

Les critères utilisés pour étudier ces cellules ont été au nombre de dix. Ils avaient été validés lors d'une journée de travail informelle le 10 novembre 2011 (participants : X. Troussard, E. Cornet (CHU Caen), JF. Lesesve, AL. Gressot (CHU Nancy) au laboratoire d'hématologie de l'hôpital de Cochin (Paris), Dr Valérie Bardet) :

- ✗ taille de la cellule :
  - Petite : LB< 2 globules rouges (GR) (illustration 22)
  - Moyenne : 2 GR ⩽ LB ⩽ 3 GR (illustration 23)
  - Grande : LB > 3 GR (illustration 25)

- ✗ cytoplasme de la cellule :
  - surface : abondance faible (illustration 22), étendue (illustration 23, 24), très étendue (illustration 25)
  - basophilie : faible (illustration 23), moyenne (illustration 22,24, 25), forte
  - contenu : grains, vacuoles (illustration 24)

- ✗ noyau :
  - forme : lobée, réniforme, monocytoïde
  - présence de nucléoles : un ou plusieurs, dans un ou deux lobes
  - Symétrie des lobes
  - présence d'un pont chromatinien
  - position du pont : polaire (illustration 22 et 23), excentré, médian, fin (illustration 23) ou épais (illustration 22).

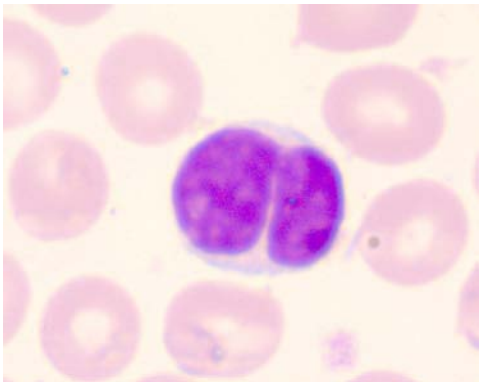


Illustration 22. Lymphocyte binucléé typique de petite taille, surface cytoplasmique faible, basophilie moyenne présentant un pont polaire épais.

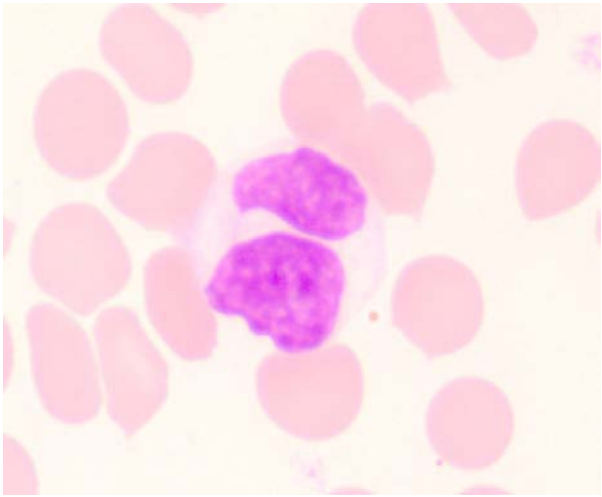


Illustration 23. Lymphocyte binucléé de taille moyenne, surface cytoplasmique étendue, basophilie faible présentant un pont polaire fin.

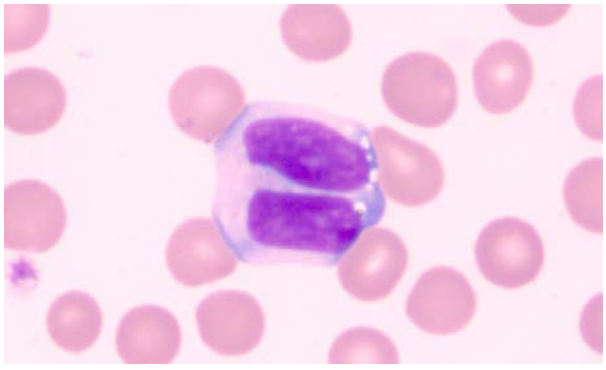


Illustration 24. Lymphocyte binucléé de taille moyenne, surface cytoplasmique étendue, basophilie moyenne, vacuolé.

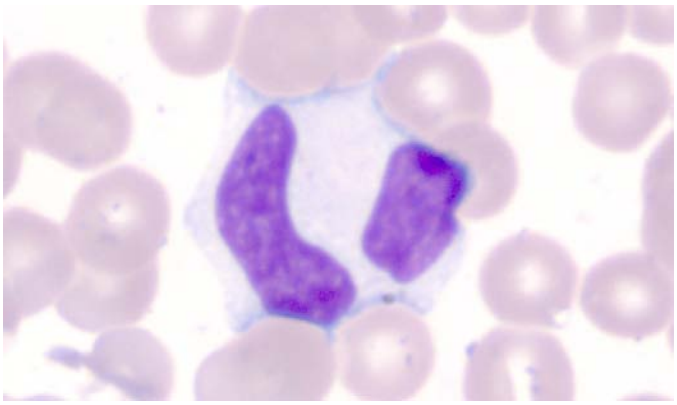


Illustration 25. Lymphocyte binucléé de grande taille, surface cytoplasmique très étendue, basophilie moyenne.

Un nombre d'au moins 10 images a été réalisé pour tous les patients présentant de nombreuses cellules atypiques. Pour les patients ayant très peu de cellules anormales, nous avons tenté d'être exhaustifs (nombre de cellules saisies parfois inférieures à dix par frottis). Nous avons ensuite établi des statistiques descriptives pour chacun des critères sélectionnés, cellule par cellule, patient par patient, et pour l'ensemble des données. Dans la mesure où nous n'avons étudié qu'un nombre limité de cellules, nous avons exprimé nos résultats en données semi-quantitatives après avoir calculé les pourcentages de cellules concernées par le critère étudié (5 catégories : - = 0 %, + = 1-33 %, ++ = 34-66 %, +++ = 67-99 %, ++++ = 100 %). Un chiffre précis aurait pu en effet procurer une sur-interprétation des résultats par rapport à leurs modalités d'obtention. Il est important de rappeler ici que notre étude a été focalisée sur les cellules binucléées ou proches, alors que celles-ci sont minoritaires par rapport aux autres lymphocytes (entre 1 et 10 % seulement de l'ensemble des lymphocytes pour les LPLB, pourcentage encore inférieur pour les autres pathologies). Nous avons également fait figurer les distributions des critères sous forme de « camemberts » pour mieux visualiser la proportion des critères étudiés. Pour faciliter la lecture des données, les couleurs de chaque critère ont été conservées dans toutes les représentations pour permettre plus facilement des comparaisons.

- **Autres données biologiques**

L'ensemble des données paracliniques présentes dans les dossiers des patients ont bien évidemment été consultées. En particulier :

- phénotypage lymphocytaire
- caryotype
- électrophorèse des protéines et immunoglobulines
- phénotype HLA
- bilan d'auto-immunité

Nous les avons plus ou moins fait figurer suivant les besoins de présentation de ce travail (données non exhaustives). Toutes ces données ont par contre été prises en compte pour l'établissement du diagnostic.

III.3. Analyse des images trouvées dans la littérature

Nous avons tenté une revue la plus exhaustive possible des images trouvées dans la littérature. Concernant la LPLB, une recherche bibliographique a été effectuée sur le logiciel PubMed (NCBI) avec les mots clés suivants :

- Persistent B-cell lymphocytosis
- Binucleated lymphocyte
- Polyclonal B-cell lymphocytosis

Une relecture de l'ensemble des articles a ensuite été effectuée et les images ont été analysées. A cette fin, nous avons testé les principales caractéristiques du profil « typique » déterminé dans la première partie de ce travail. Les grandes caractéristiques des LB ont été vérifiées :

- Taille moyenne
- Contours réguliers
- Forme du noyau : lobée, monocytoïde, réniforme

- Lobes assymétriques
- Nucléole
- Cytoplasme : surface étendue, basophilie moyenne

Nous n'avons pas étudié la présence de vacuoles ou grains cytoplasmiques car la taille et la définition des images étaient souvent incompatibles avec cette analyse. A noter que 8 publications sur 35 sont issues de Troussard et collaborateurs, ce qui donne un nombre de cellules fournies dans les publications : 43/103, soit presque la moitié des cellules représentées et étudiées (42 %).

IV. Résultats

IV.1. Caractéristiques générales des lymphocytes dans les différentes catégories : cellules lymphoïdes autre que les lymphocytes binucléés

IV.1.a) Rappel sur l'analyse des critères étudiés

Pour chaque patient, nous avons analysé son environnement lymphocytaire sur frottis sanguin. Chaque critère (« type » de lymphocyte) a été exprimé en semi-quantitatif :

- - : aucune cellule correspondant au critère étudié
- + : 1 à 33 % des cellules
- ++ : 34 à 66 % des cellules
- +++ : 67 à 99 % des cellules
- ++++ : 100 % des cellules

Les données sont rassemblées dans les tableaux 1, 2, 3, 4 dans les annexes 1,2,3,4 pour des raisons de mise en page de cette thèse.

IV.1.b) LPLB avec et sans iso 3q (tableau 1, voir annexe 1)

77 % des patients présentent une majorité de petits lymphocytes banals (67 à 99 % des lymphocytes). Les patients présentent aussi des cellules monocytoïdes (46% d'entre eux) et hyperbasophiles (31% d'entre eux) en grand nombre (34 à 66 % des lymphocytes) et une petite proportion de cellules clivées (1 à 33 % des cellules). Les autres catégories de lymphocytes sont rarement présentes. Les cellules monocytoïdes sont caractérisées par une taille moyenne à grande, des contours nucléaires déformés (sans encoche marquée néanmoins), un cytoplasme de basophilie moyenne (parfois faible), le plus souvent proche de celle des LB des patients.

La détection de ces cellules oriente souvent le diagnostic. Au cours des LPLB, le contexte cellulaire (lymphoïde) semble donc fondamental car il oriente le diagnostic. En effet, dans les frottis analysés, nous avons constaté la présence de deux types de cellules à côté des petits lymphocytes matures :

- Les cellules monocytoïdes de grande taille avec un noyau déformé et un cytoplasme abondant et clair,
- Les cellules hyperbasophiles de taille plus petite, à noyau plutôt rond et à cytoplasme moins abondant et basophile.

La proportion de ces cellules fait l'objet de deux types de profil. Le premier profil met en évidence des cellules monocytoïdes abondantes, faciles à observer, et très évocatrices du diagnostic. Dans ce contexte, on observe aussi souvent des lymphocytes hyperbasophiles. Le deuxième profil fait état de rares cellules monocytoïdes. Le diagnostic est difficile car cela donne une impression de frottis « réactionnel » plutôt monomorphe cependant, et non évocateur d'un syndrome mononucléosique. Le profil avec cellules monocytoïdes abondantes est plus souvent retrouvé dans les LPLB avec iso3q (7 patients avec 34 à 66 % des lymphocytes) que dans les LPLB sans iso3q (4 patients), on pourrait donc supposer qu'il est plus facile de suspecter une LPLB dans la première catégorie.

Ce groupe de patients est celui qui met en évidence le plus de lymphocytes binucléés qui représentent 1 à 13 % des lymphocytes et leur morphologie est plutôt typique.

IV.1.c) Pathologies réactionnelles (tableaux 2 et 3, voir annexes 2 et 3)

Dans les diagnostics réactionnels divers, les lymphocytes sont chez tous les patients avant tout des petits lymphocytes matures pour 34 à 99 % d'entre eux. Trois patients sur quatre présentent un petit contingent de lymphocytes clivés (1 à 33%) et d'ombres nucléaires. Les LB sont très rares au cours des états réactionnels (moins de 1 % de LB parmi les lymphocytes). On note chez la moitié des patients la présence de LB « typiques », images caricaturales de ce que l'on pourrait attendre au cours d'une LPLB.

Dans la sous-catégorie « SEP » où les patients sont traités par natalizumab, les patients présentent un environnement cellulaire où les petits lymphocytes matures sont largement prédominants (entre 67 et 99 % des lymphocytes chez 96 % des patients). Cette observation se retrouve également chez les malades sans traitement mais dans une moindre mesure (56 % des patients). On trouve entre 1 et 33% de lymphocytes clivés parmi les lymphocytes chez 86 % des patients avec traitement et chez 78 % des patients sans traitement. On met aussi en évidence (72 % des patients avec traitement et 67 % des patients sans traitement) entre 1 et 33 % des lymphocytes hyperbasophiles parmi les lymphocytes. D'autre part, toute la série de patients atteints de SEP présentent 1 à 33 % d'ombres nucléaires. On note l'absence de lymphoplasmocytes, de prolymphocytes, de lymphocytes en fleur, de lymphocytes convolutés et de mitoses. Les différences majeures entre les patients traités et les patients sans traitement sont d'une part la présence de lymphocytes monocytoïdes chez 89 % des patients non traités par natalizumab (absents ou presque chez les patients avec traitement) et, d'autre part, le pourcentage de LB qui est très inférieur à 1 % des lymphocytes chez ces patients non traités. Ce sont des formes typiques de LB qui prédominent chez 86 % des patients traités. Les LB sont donc rares au cours des SEP traitées par natalizumab et exceptionnels sans traitement (pas de traitement ou autre traitement). Par contre, et comme dans les états réactionnels, ils apparaissent plutôt typiques.

IV.1.d) Syndromes lymphoprolifératifs (tableau 4, voir annexe 4)

Les patients de cette catégorie présentent une population cellulaire où les petits lymphocytes matures sont prédominants et, dans une moindre mesure, les lymphocytes monocytoïdes. En

effet, ces petits lymphocytes matures sont présents entre 67 et 99 % de la population lymphocytaire chez un tiers des patients et entre 34 et 66 % chez un autre tiers des patients. Parmi les lymphocytes, 76 % des patients présentent des lymphocytes monocytoïdes le plus souvent entre 1 et 33 % des cellules lymphoïdes. 59 % des patients présentent des lymphocytes convolutés entre 1 et 66 % des lymphocytes. Les lymphocytes clivés représentent une petite partie des lymphocytes (1 à 66%) chez 47 % des patients. On notera la quasi absence de prolymphocytes, lympho-plasmocytes, lymphocytes en fleur, lymphocytes stimulés, mitoses, apoptoses. Chez 65 % des patients, des ombres nucléaires sont présentes parmi la population lymphocytaire (1 à 33 % en majorité), ce qui est moins le cas au cours des LPLB. Sur les 17 patients, seuls 2 d'entre eux ont un pourcentage de LB supérieur à 10 %. Le reste présente un pourcentage de LB parmi les lymphocytes inférieur à 10 %, voir inférieur à 1 %. Parmi les formes binucléées typiques ou atypiques, toutes les formes sont présentes chez les patients : majorité de forme typique, majorité de forme atypique, mélange des deux formes. Cette anomalie est donc minoritaire et souvent plus proche d'une curiosité que d'une forme récurrente.

Au cours des LLC, tous les patients présentent une majorité de petits lymphocytes matures avec quelques lymphocytes clivés, monocytoïdes ou convolutés et il y a des ombres nucléaires chez cinq patients sur six. On trouve tout de même deux patients avec plus de 5 % de LB parmi les lymphocytes (7 et 22 % de LB). Enfin, il existe un polymorphisme de la morphologie des LB à forme typique, atypique ou mélange des deux formes. En outre, ce sont des LLC pléïomorphes parmi les cas 1, 2, 3, 5, 6 avec des ombres de Gümprecht inférieures à 30 %.

Au cours des LZM, l'environnement cellulaire est un peu plus polymorphe : ce sont les lymphocytes monocytoïdes qui sont présents chez tous les patients mais ils ne sont pas majoritaires (1 à 66 % des lymphocytes). Deux patients sur trois présentent des petits lymphocytes matures et des lymphoplasmocytes mais en proportion majoritaire seulement chez un patient. Ici les lymphocytes clivés sont totalement absents et on ne trouve des lymphocytes convolutés que chez un patient. Un patient présente quelques lymphocytes avec villosités membranaires et un autre patient présente des immunoblastes. Les LB restent ici rares puisque deux patients présentent 2 % de LB parmi les cellules lymphocytaires. On trouve une majorité de forme atypiques de LB, ce qui est en rapport avec le polymorphisme lymphocytaire des LZM.

IV.2. Caractéristiques des lymphocytes binucléés dans les différentes catégories

IV.2.a) Rappel sur l’analyse des critères étudiés

Les résultats ont été obtenus de la manière suivante. Pour chaque patient nous avons cumulé les données des analyses de 10 à 30 cellules (médiane = 15 cellules) et établi des pourcentages pour les différents critères étudiés. Ce sont ces dernières données qui apparaissent dans les tableaux, après conversion en critères semi-quantitatifs. Pour rappel, les catégories - à ++ ++ correspondent à :

- - : aucun LB ne présente le critère correspondant
- + : 1 à 33 % des LB présentent le critère correspondant
- ++ : 34 à 66 % des LB présentent le critère correspondant
- +++ : 67 à 99 % des LB présentent le critère correspondant
- ++++ : 100 % des LB présentent le critère correspondant

Les données sont rassemblées dans les tableaux et sous forme d'images en annexe pour des raisons de mise en page.

IV.2.b) LPLB avec iso 3q (n=13) (tableau 5, voir annexe 5, images, voir annexe 8)

Dans le groupe des LPLB avec iso3q, tous les patients présentent des LB de taille moyenne mais pour 3 patients ces cellules représentent moins de 66 % des LB. La majorité (10 patients sur 13) ont plus de 67% des cellules de taille moyenne. Les LB de petite taille sont présents chez 8 patients sur 13 mais ils sont minoritaires (moins de 33 % des LB chez 7 patients). Concernant l’étendue du cytoplasme, entre 67 et 100 % des LB présentent une surface moyennement étendue et ce chez 8 patients sur 13, le reste est surtout représenté par des LB à cytoplasme faiblement étendu chez 9 patients sur 13. Au total, dans cette catégorie il existe une hétérogénéité du cytoplasme majoritairement de surface étendue mais aussi des cellules à surface réduite. Tous les patients présentent des LB avec un cytoplasme de basophilie moyenne, cette basophilie semble

donc un critère important. Aucune villosité ne déforme les contours cellulaires et seuls 3 patients sur 13 présentent des LB contenant des grains et ceci dans seulement une minorité extrême de cellules (moins de 33 % des LB). Onze patients sur treize présentent des LB vacuolés mais ces vacuoles sont présentes dans une minorité de cellules (le plus souvent entre 1 et 33 % des LB).

La forme lobée des LB est constamment présente (évidemment) mais il existe aussi constamment des formes réniformes entre 1 et 33 % des LB et 8 patients sur 13 ont des formes monocytoïdes. On met en évidence la présence de nucléoles chez tous les patients et ceci dans 1 à 66 % des LB. Le noyau a des lobes asymétriques chez quasiment tous les patients. Un pont chromatinien n'est pas visible chez tous les patients : 11 patients sur 13 ont entre 1 et 99 % de LB sans pont (hétérogénéité marquée). Lorsque ce dernier est présent, il peut être polaire épais ou fin ou excentré, épais ou fin. Les résultats sont présentés sous forme de camemberts dans le paragraphe suivant avec les LPLB sans iso3q.

IV.2.c) LPLB sans iso 3q (n=13) (tableau 5, voir annexe 5, images, voir annexe 8)

Dans le groupe des LPLB sans iso 3q, les caractéristiques sont sensiblement identiques avec quelques différences de signification impossible à déterminer vu les faibles effectifs. La taille des LB est moyenne (67 à 99 % des LB chez tous les patients sauf un) mais des cellules à petite taille sont toujours observées (1 à 33 % des LB chez 12 patients sur 13, un patient en ayant plus). La surface cytoplasmique est étendue (67 à 100 % des LB) mais en rapport avec l'affirmation précédente, on trouve chez tous les patients sauf un, des cellules à petite surface (1 à 33 % des LB). Aucune surface très étendue n'a été observée dans ce groupe. On constate donc une hétérogénéité cellulaire plus marquée que dans le groupe des LPLB avec iso 3q. La basophilie cytoplasmique est constamment moyenne (pas d'exception). Les contours cellulaires sont toujours réguliers. De rares LB possèdent des grains (4 patients sur 13) ou des vacuoles (6 patients sur 13). La forme du noyau est lobée chez tous les patients (34 à 99 % des LB) mais il existe constamment des formes monocytoïdes (sauf un cas) ou réniformes. Les nucléoles sont présents chez tous les patients pour 1 à 33 % des LB. Les lobes sont presque toujours asymétriques. Le pont chromatinien est absent chez tous les patients (sauf un cas), ceci pour une partie des LB (1 à 66 %). En revanche, toutes les autres combinaisons sont observées (polaire ou excentré, fin ou épais, médian épais) mais on observe constamment des ponts polaires épais.

Les caractéristiques des patients avec ou sans iso 3q étant proches nous avons groupé les deux séries. Les résultats sont donnés sous forme de camembert ci-dessous :

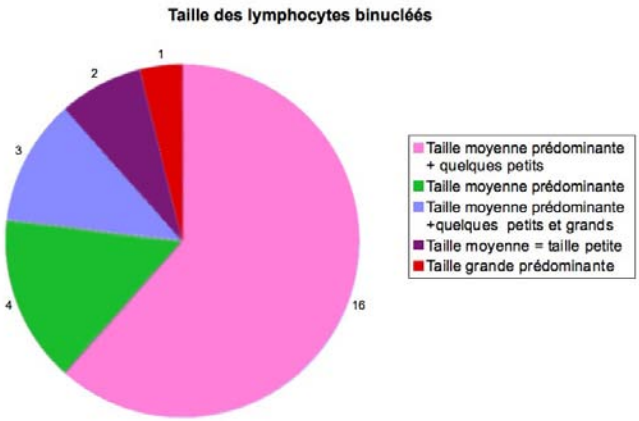


Figure 1: Répartition de la taille des LB dans la LPLB

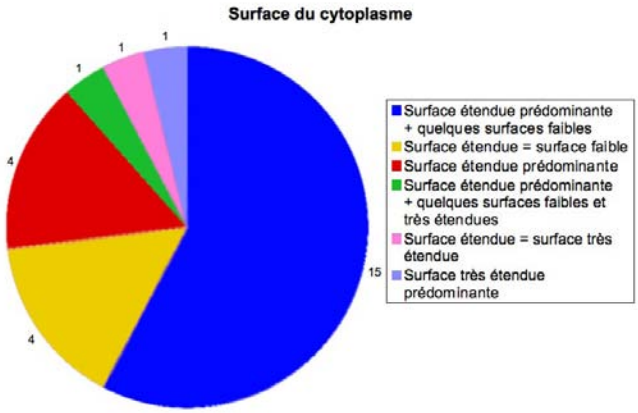


Figure 2: Répartition de la surface du cytoplasme des LB dans la LPLB

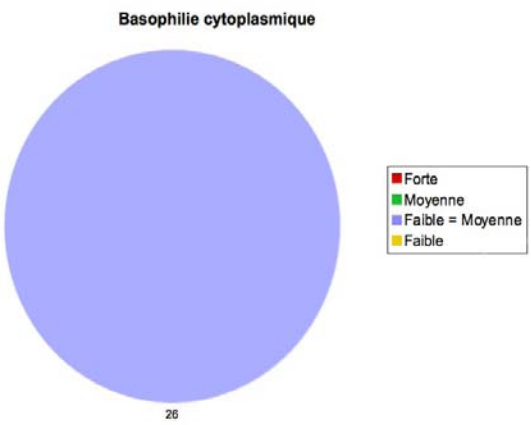


Figure 3: Répartition de la basophilie du cytoplasme des LB dans la LPLB

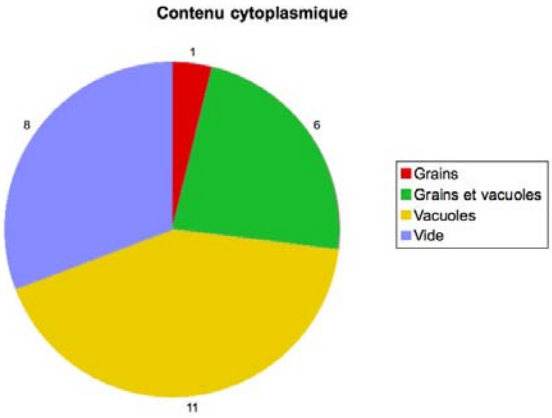


Figure 4: Répartition du contenu cytoplasmique des LB dans la LPLB

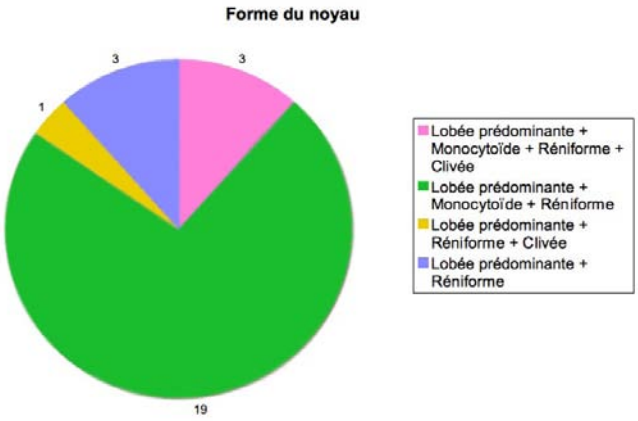


Figure 5: Répartition des différentes formes de noyaux des LB dans la LPLB

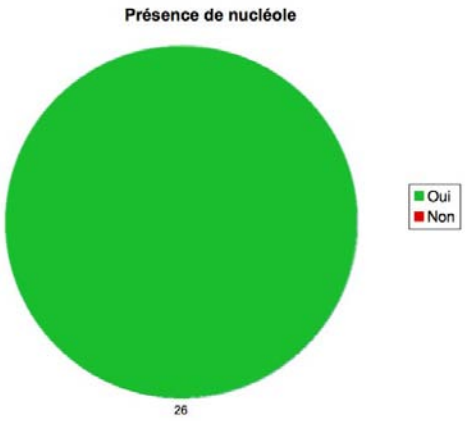


Figure 6: Répartition des LB avec ou sans nucléoles dans la LPLB

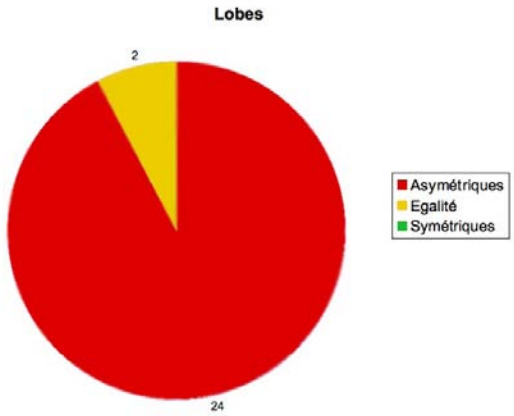


Figure 7: Répartition des lobes des LB dans la LPLB

IV.2.d) Pathologies réactionnelles (tableau 6, voir annexe 6, images, voir annexe 8)

Dans la catégorie « pathologies réactionnelles », la majorité des patients présentent des LB à taille moyenne (67 à 100 % des LB). Seulement un patient présente des LB de petite taille en majorité. La surface cytoplasmique est d'étendue moyenne chez tous les patients pour la majorité des LB. La répartition de la basophilie du cytoplasme est hétérogène : 75 % des patients

présentent un cytoplasme faiblement basophile pour 34 à 66 % des LB, un patient a des LB avec forte basophilie. Le cytoplasme ne contient presque pas de grain ni villosité et il n'y a jamais de vacuole. Les formes lobées sont prédominantes (67 à 99 % des LB) chez tous les patients et il existe des LB réniformes (1 à 33 % des LB) chez 75 % des patients. Nous n'avons pas trouvé de nucléole dans cette catégorie. La moitié des patients présentent des LB à lobes symétriques. Tous les patients présentent une partie de LB sans pont chromatinien (1 à 66 % des LB) et quand il est présent, on le trouve en majorité épais.

Dans la sous-catégorie « SEP » et chez les patients non traités par natalizumab, l'analyse des LB n'a pas été faite car le pourcentage de LB parmi les lymphocytes était inférieur à 1 %, nous avons donc disposé de trop peu d'images pour les analyser. Par conséquent, nous avons fait apparaître uniquement les résultats des LB chez les patients traités par natalizumab.

Chez les patients traités par natalizumab, la majorité (84 %) présente des LB de taille moyenne. La surface cytoplasmique est moyennement étendue (77 % des patients) même si une petite partie des LB possède une surface cytoplasmique de faible étendue (39 % des patients). 68% des patients ont des LB avec un cytoplasme moyennement basophile mais de nombreux patients (52 %) présentent une partie des LB avec un cytoplasme faiblement basophile. Les cellules binucléées ne présentent pas de grain cytoplasmique et la plupart des patients ne présentent pas de villosité (94 %) ni vacuole (90 %). De plus, les noyaux ne présentent pas de nucléole. Les 2 lobes sont en majorité asymétriques (61 % des patients) et le pont chromatinien reliant les 2 lobes est surtout polaire et fin (45 %).

Les résultats sont présentés sous forme de camemberts ci-dessous :

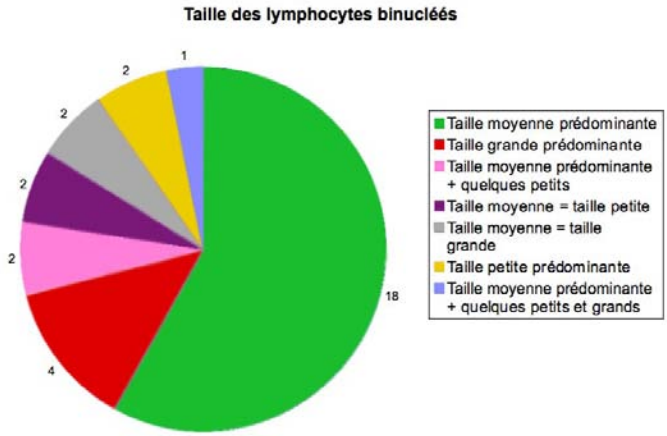


Figure 8: Répartition de la taille des LB dans la SEP

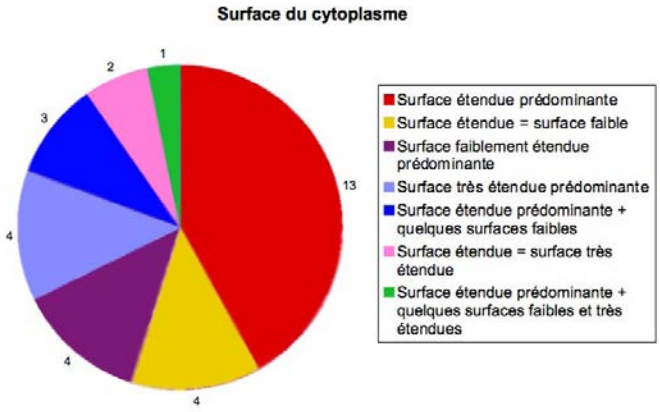


Figure 9: Répartition de la surface du cytoplasme des LB dans la SEP

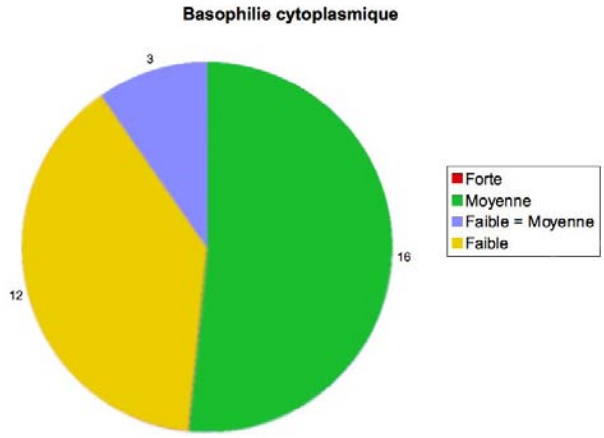


Figure 10: Répartition de la basophilie du cytoplasme des LB dans la SEP

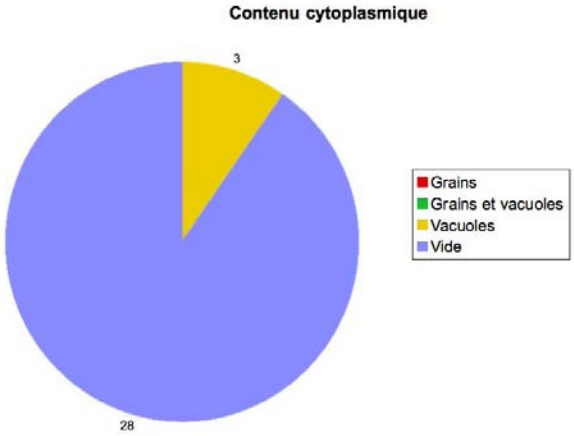


Figure 11: Répartition du contenu cytoplasmique des LB dans la SEP



Figure 12: Répartition des différentes formes de noyaux des LB dans la SEP



Figure 13: Répartition des LB avec ou sans nucléoles dans la SEP

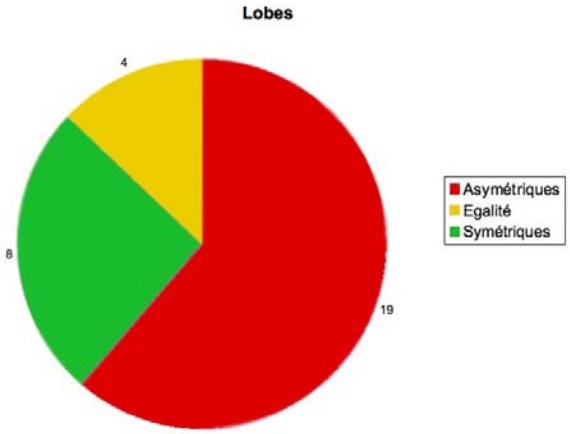


Figure 14: Répartition des lobes des LB dans la SEP

IV.2.e) Syndromes lymphoprolifératifs (tableau 7, annexe 7, images, voir annexe 8)

Nous avons fait une interprétation globale des données sans tenir compte des diagnostics (ce qui est critiquable). Nous mettrons en exergue ensuite les caractéristiques des LB au cours des LLC et des LZM (les deux catégories les plus représentées mais les effectifs sont néanmoins très faibles).

La majorité des LB sont de taille moyenne : 1 à 100 % des LB chez tous les patients sauf un cas (LLC). Mais Il existe une petite proportion de LB de petite taille pour 47 % des patients (parmi lesquels deux patients (LLC et lymphome T) présentent malgré tout 67 à 100 % de LB de petite taille) et 53 % des patients présentent des LB de grande taille (rares : 1 à 33 % des LB et non spécifiques d'une entité).

La surface du cytoplasme varie légèrement d'un patient à l'autre même si elle est de taille moyenne pour la majorité des LB (de 1 à 100 % des LB chez tous les patients sauf un). Il existe malgré tout 59 % des patients pour lesquels au moins 1 à 33 % des LB ont une surface cytoplasmique faiblement étendue (quatre patients parmi eux présentent 34 à 100 % de LB à surface cytoplasmique faible : LLC, LZM et LF en particulier). La basophilie du cytoplasme est moyenne chez tous les patients sauf un : cette tendance est prédominante pour 71 % des patients qui ont entre 67 et 100 % de LB à basophilie moyenne. Cependant, la moitié des patients (53 %) présentent des LB à faible basophilie (dont trois patients avec 34 à 100 % des LB). Cette faible basophilie est particulièrement marquée au cours d'un cas de maladie de Waldenström et d'un lymphome T. Un LZM a une proportion majoritaire de LB fortement basophiles. 82 % des patients ont des cellules binucléées sans villosité ni grain et 76 % ne présentent pas non plus de vacuole. Il existe quelques LB avec contours cellulaires déformés (villosités) mais cependant pas au cours des LZM.

Tous les patients présentent des formes lobées (34 à 100 % des LB chez 94 % des patients) mais 65 % des patients présentent une faible proportion de LB réniformes (entre 1 et 33 % des LB, un peu plus marqué dans un cas de lymphome du manteau) et 53 % des patients ont une petite proportion de LB encochés ou clivés (très marqué dans un cas de lymphome T). Les noyaux sont dépourvus de nucléoles chez 53 % des patients. Les lobes sont asymétriques chez 59 % des patients. Le pont chromatinien reliant les 2 lobes est absent chez 14 patients sur 17 dans des proportions variables. Quand il est présent, il est majoritairement polaire épais (59 % des patients)

ou excentré épais (53 % des patients), ceci concernant 1 à 66 % des LB.

Au cours des LLC, les caractéristiques morphologiques des LB sont très proches de celles décrites pour les LB de LPLB. En revanche, les LB à noyau de forme monocytoïdes sont quasiment absents, les nucléoles sont très rares et il n'y a pas de vacuole. Les lobes sont moins souvent asymétriques qu'au cours des LPLB. Rappelons qu'il s'agissait surtout de contextes de LLC pléïomorphes.

Au cours des LZM, les caractéristiques des LB sont aussi proches des LPLB. Cependant, il existe des cellules très basophiles parfois. Il n'a pas été observé de villosité sur les contours cellulaires alors que des cellules villeuses sont régulièrement observées au cours des LZM.

Les résultats sont présentés sous forme de camemberts ci-dessous :

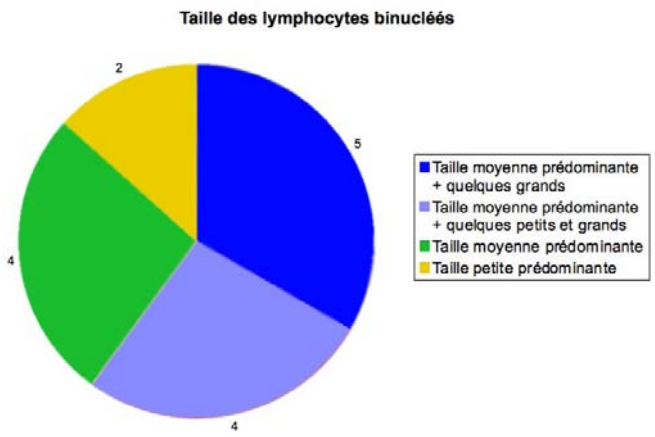


Figure 15: Répartition de la taille des LB dans les SLP

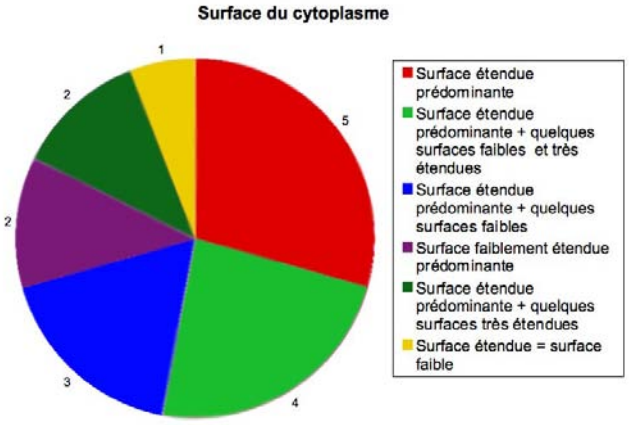


Figure 16: Répartition de la surface du cytoplasme des LB dans les SLP

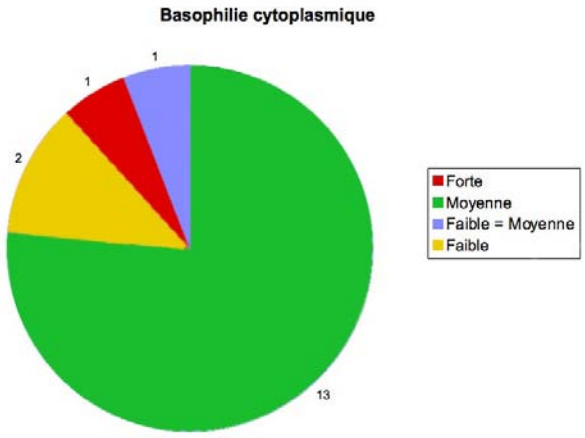


Figure 17: Répartition de la basophilie du cytoplasme des LB dans les SLP

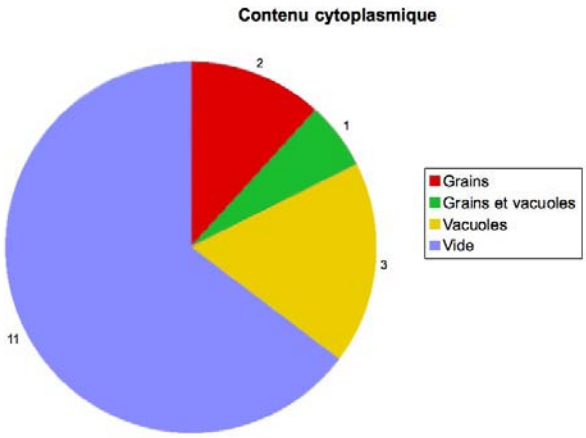


Figure 18: Répartition du contenu cytoplasmique des LB dans les SLP

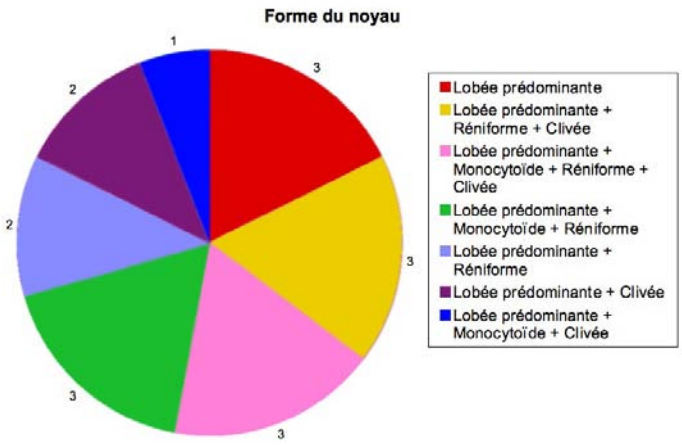


Figure 19: Répartition des différentes formes de noyaux des LB dans les SLP



Figure 20: Répartition des LB avec ou sans nucléoles dans les SLP

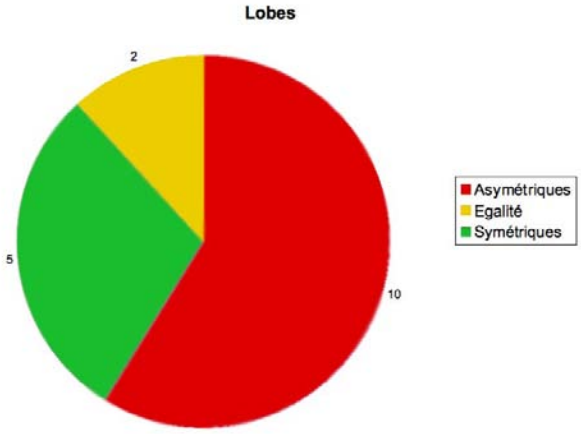


Figure 21: Répartition des lobes des LB dans les SLP

IV.2.f) Conclusion des résultats

- **LPLB avec et sans iso3q**

Dans le groupe des LPLB avec un isochromosome +i(3)(q10), les cellules binucléées sont de taille moyenne. Cette taille moyenne est à la fois majoritaire et constamment trouvée, mais il existe une certaine hétérogénéité avec la présence de petits LB. On met en évidence la même hétérogénéité pour la surface du cytoplasme qui est d'une étendue faible à moyenne (surtout). Le cytoplasme a une basophilie moyenne constante, les vacuoles sont régulièrement présentes et il ne contient quasiment jamais de grains cytoplasmiques. Les contours cellulaires sont réguliers, rarement festonnés mais jamais avec des villosités. Les cellules toujours retrouvées en majorité sont des cellules à noyau lobé, mais des cellules monocytoïdes ou réniformes (en proportion notable) sont présentes chez la majorité des patients. Par contre, les encoches nucléaires sont rares. La chromatine est mature, les nucléoles sont toujours présents. Ces derniers sont de petite taille, parfois mal visibles, les gros nucléoles nets (type prolymphocyte) sont rares. Ils sont présents dans un ou deux lobes. Les lobes sont quasiment toujours asymétriques, reliés par un pont, souvent mal visible ou suggéré voire absent. Au total, des polymorphismes de la forme du noyau et du pont sont constamment observés.

Concernant les cellules LPBL sans iso 3q, les caractéristiques générales sont les mêmes. On constate cependant que la taille des LB et la surface du cytoplasme sont encore plus hétérogènes que dans la catégorie des LPLB avec iso 3q : les LB sont souvent plus petits avec une surface cytoplasmique plus petite. Enfin, les cellules ne présentent jamais de vacuole. Cependant, il est impossible en pratique de distinguer les 2 types (LPLB avec ou sans iso3q) sur la simple morphologie des LB.

- **Syndromes réactionnels**

Au cours des pathologies réactionnelles, les cellules sont presque toujours de taille moyenne, parfois villositaires mais la surface du cytoplasme et la basophilie sont inconstantes (plutôt faible à moyenne surtout) et le cytoplasme est dépourvu de vacuole. Aucun nucléole n'est observé. Les LB sont rares et cette forme est isolée avec un pont inconstamment présent et non spécifique.

Au cours des SEP avec un traitement par natalizumab, les LB sont plutôt de taille moyenne avec peu de cellules de petite ou grande taille, leur répartition est plus homogène que dans la catégorie des LPLB. Le cytoplasme montre une surface et une basophilie un peu plus hétérogènes (de faible à moyenne), à contours réguliers, sans grain ni vacuole. Le noyau est constamment bilobé, plus ou moins symétrique avec un pont (inconstant) plutôt polaire et fin. Enfin on ne trouve jamais de nucléole. En fait ces cellules pourraient être considérées comme les plus « typiques » par excès, de part leur taille et leur forme constamment bilobée, plus belles que les LB rencontrés au cours des LPLB, les caractéristiques sont si hétérogènes qu'il est impossible de définir une forme type (« standard »).

- **Syndromes lymphoprolifératifs**

Dans la catégorie des SLP, les cellules binucléées sont de taille moyenne en majorité mais il existe une petite partie de cellules à petite taille et aussi à grande taille. La répartition de la taille est plus hétérogène que dans le groupe des LPLB. Les LB sont plus rares dans cette catégorie que dans celle des LPLB mais leur forme est assez homogène avec quelques autres formes (réniforme, clivée) et des formes monocytoïdes complètement absentes contrairement aux LB de la catégorie LPLB qui présentent des formes monocytoïdes ou réniformes. La surface

cytoplasmique est moyennement étendue chez la majorité des patients mais on constate que comme dans la catégorie des LPLB, une petite partie des LB présente une surface cytoplasmique faiblement étendue. La basophilie du cytoplasme n'est pas constamment moyenne, il y a une petite proportion de LB à cytoplasme faiblement basophile. Concernant le contenu cytoplasmique, la seule différence avec la catégorie LPLB concerne les vacuoles qui sont ici généralement absentes. Dans le noyau, les nucléoles ne sont pas constamment présents. Les lobes sont plutôt asymétriques et la présence d'un pont chromatinien est aléatoire, lorsqu'il est présent, il se présente sous forme polaire ou excentré épais.

IV.3. Résultats des cas de la littérature (tableau 8, voir annexe 9)

Trente-cinq publications consacrées aux LPLB et illustrations ont été trouvées. Nous ne pouvons garantir totalement l'exhaustivité de cette liste mais elle donne un ordre de grandeur de ce qui est consultable à quelques unités près (publications non référencées, plus que mauvais choix de mots clés à indexer). Une publication n'était pas exploitable car l'original n'a pas été trouvé. Huit publications n'étaient pas totalement exploitables (une publication ancienne, six publications dont les images sont en noir et blanc, une publication dont l'image est de mauvaise qualité) notamment en ce qui concerne la présence de nucléole et la basophilie du cytoplasme. Au total, nous avons pu détailler 103 cellules : les cellules représentées sont majoritairement des LB conformes à ce qui est attendu, mais aussi les cellules monocytoïdes retrouvées au cours des LPLB.

Nous observons que les critères que nous avions trouvé sont très majoritairement présents. On constate que les critères les plus uniformes sont les critères cytoplasmiques. Seulement 12 cellules sur 103 ont une surface non moyenne et 10 cellules ont un cytoplasme fortement ou faiblement basophile (illustration 26).

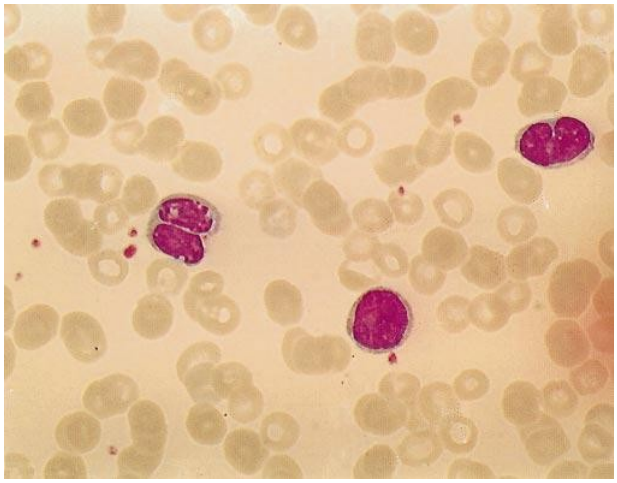


Illustration 26. Lymphocyte binucléé variant.
D'après Reimer et al, 2000.

La taille est modérément hétérogène avec 17 cellules sur 103 n'ayant pas une taille moyenne (illustration 26) : quelques cellules petites (LB) et grandes (cellules monocytoïdes). Les contours sont presque toujours réguliers. La majorité des LB (70 % des cellules observées) présente un noyau à forme bilobée plus ou moins asymétrique (84 % de forme bilobée asymétrique parmi les formes lobées). Il existe malgré tout une petite proportion de cellules monocytoïdes ou réniformes (illustration 27). Enfin 16 LB ne présentent pas de nucléole (illustration 27). Ces données confirment dans leur ensemble la pertinence des critères morphologiques proposés précédemment.

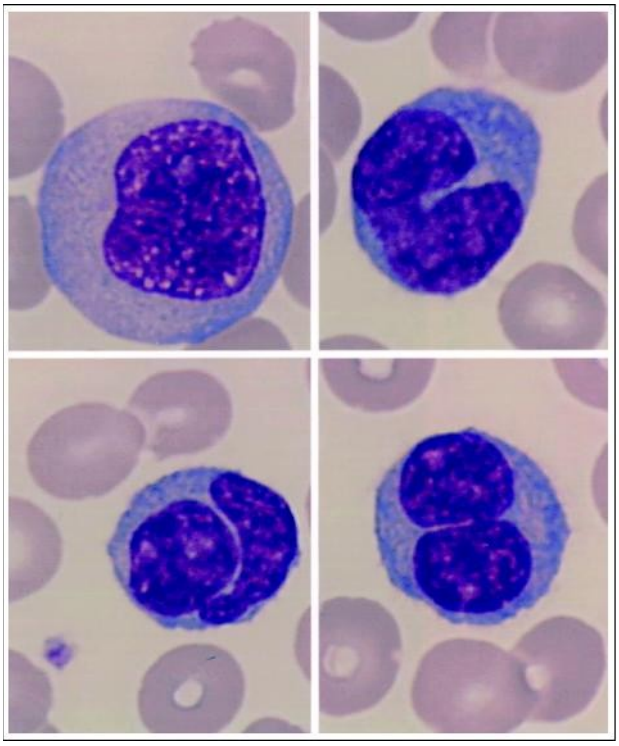


Illustration 27. Un lymphocyte monocytoïde et 3 LB variants.
D'après Vincenot et al, 2003.

V. DISCUSSION

V.1. Conclusion sur la lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés

Nous avons étudié la morphologie lymphocytaire au cours des LPLB, puis, par extension dans l'ensemble des pathologies où les LB étaient présents sur le frottis sanguin (éventuellement rare).

Nous avons pu caractériser la morphologie lymphocytaire des malades atteints de LPBL. Les caractéristiques générales sont les suivantes : avant tout grande hétérogénéité de la morphologie

avec un polymorphisme important, variant même d'un cas à l'autre. Il existe en fait de nombreuses formes de transition, depuis la cellule à tendance ovalaire et modérément déformée, à la vraie cellule, bi voire tri ou quadri nucléée. La chromatine est constamment mature. Il n'existe pas de blaste ou de cellule à chromatine décondensée ou immature. Les frottis des patients ont mis en évidence deux profils lymphocytaires. Les deux types de profils présentent une majorité de petits lymphocytes matures et quelques lymphocytes clivés. Le premier est beaucoup plus polymorphe, il est composé d'assez nombreux lymphocytes monocytoïdes et quelques lymphocytes hyperbasophiles. Il est assez facile à mettre en évidence et plutôt observé lorsqu'il y a un isochromosome +i(3)(q10) que sans l'anomalie génétique. Le deuxième profil est plus difficile à détecter car il est composé de quelques cellules monocytoïdes et hyperbasophiles, on peut donc plus facilement le confondre avec un syndrome réactionnel. Dans les deux cas, ces lymphocytes prédominent largement par rapport aux cellules binucléées qui représentent entre 1 et 10% des cellules lymphoïdes.

Les LB, eux, sont de taille moyenne, avec un cytoplasme constamment basophile, contenant très souvent des vacuoles, à contours nets, et au noyau bilobé asymétrique et nucléolé, le pont étant hétérogène (absent, excentré, polaire). Les formes lobées sont majoritaires mais non constantes, en effet Il existe un contingent notable de cellules monocytoïdes et réniformes. Le LB typique avec deux lobes n'est donc pas constamment retrouvé en proportion importante. Cet aspect, avec à la fois l'hétérogénéité des LB et l'environnement monocytoïde ou basophile semble caractéristique des LPLB.

V.2. Conclusion sur les syndromes réactionnels

Dans les syndromes réactionnels notamment les SEP, l'environnement cellulaire apparaît beaucoup plus homogène avec une majorité de petits lymphocytes matures accompagnés de quelques lymphocytes clivés chez les patients traités ou non par natalizumab. Les cellules binucléées sont beaucoup plus rares chez les patients atteints de SEP que dans les LPLB, c'est même exceptionnel, mais le pourcentage semble augmenter après introduction du natalizumab. Cette augmentation s'explique par le mécanisme d'action du natalizumab qui engendre une lymphocytose. Concernant les LB, la répartition de la taille est plus homogène que dans les LPLB avec une nette prédominance de LB à taille moyenne. Il n'existe pas d'autre forme que des noyaux lobés ce qui suggère que les LB de cette catégorie ont des caractéristiques plus « attendues » *a priori* que celles trouvées au sein des LPLB. La grande différence avec la catégorie LPLB est l'absence de vacuole et nucléole. Finalement, la population lymphocytaire est de manière générale plus monomorphe que celle des LPLB.

V.3. Conclusion sur les syndromes lymphoprolifératifs

Dans la série des SLP, la population lymphocytaire est majoritairement composée de petits lymphocytes matures avec une petite proportion de lymphocytes monocytoïdes, convolutés et clivés. La chromatine est constamment mature. Il n'existe pas de cellule à chromatine décondensée ou immature sauf dans les cas de leucémie à prolymphocytes T ou B. La proportion de LB est plus petite dans cette catégorie que dans la catégorie des LPLB et le mélange de formes typiques et atypiques relève plus d'une curiosité que d'une forme récurrente. Les LB sont comme dans la série des LPLB de taille petite à moyenne (surtout), avec un cytoplasme moyennement basophile. La seule grande différence avec la série des LPLB est la quasi absence de vacuoles et de nucléoles comme pour les patients atteints de SEP.

V.4. Conclusion générale de notre travail

Au total, notre travail donne des orientations pour répondre à la question posée à savoir s'il existe des critères morphologiques spécifiques pour définir les cellules binucléées des LPLB. L'analyse morphologique des LB nous a permis de dégager plusieurs critères récurrents dans les différentes catégories :

- ✗ concernant la cellule : taille moyenne, contours réguliers,
- ✗ concernant le noyau : forme lobée, lobes assymétriques, réniforme ou monocytoïde, nucléolé,
- ✗ concernant le cytoplasme : surface moyenne, basophilie moyenne.

Ceci permettra une meilleure définition (plus stricte) de cette entité, en particulier si un doute persiste en particulier en l'absence d'un isochromosome +i(3)(q10).

Les résultats de l'analyse morphologique des lymphocytes nous ont permis de voir que le type de polymorphisme observé sur la population lymphocytaire de la catégorie LPLB est spécifique de cette entité et ne se retrouve pas dans les autres catégories. Cela pourra permettre de mieux cibler une LPLB lorsqu'on est en présence de petits lymphocytes matures avec d'assez nombreux lymphocytes monocytoïdes et quelques lymphocytes hyperbasophiles. Enfin, ce travail montre aussi que les LB ne sont pas spécifiques de la LPLB puisqu'on les retrouve dans d'autres pathologies et qu'on ne peut pas associer une morphologie de LB à chaque type de SLP.

V.5. Reprise des illustrations de la littérature

V.5.a) Comparaison à notre étude (tableau 8, annexe 9)

Nous avons voulu reprendre les illustrations proposées dans la littérature afin de tester la pertinence des caractéristiques trouvées au cours de notre étude morphologique « expérimentale ». Lors des réunions préparatoires à notre travail, nous avions été surpris par le grand polymorphisme des LB. En reprenant la littérature nous craignions de retrouver cette hétérogénéité. Or, les résultats de l'analyse des cellules proposées dans les publications sont en

accord avec nos propres données. Nous avons donc été un peu surpris mais cela présente l'avantage de confirmer d'une certaine manière nos propres résultats. Cependant, il faut noter que 42 % des cellules figurées font partie de la cohorte suivie par la coordination de ce travail (Pr Troussard et Dr Lesesve), ce qui est à l'origine d'un biais.

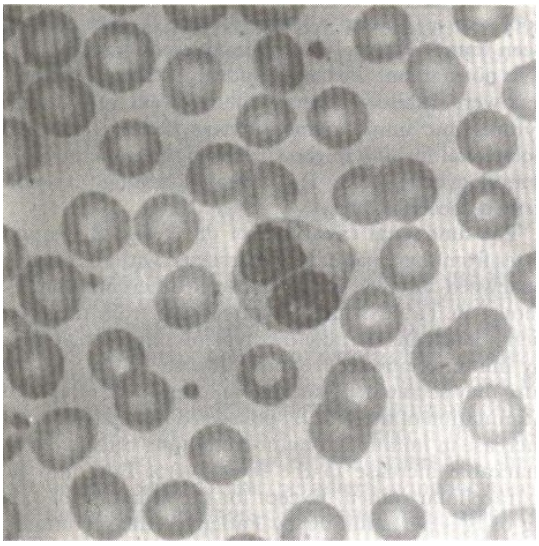


Illustration 28. Lymphocyte binucléé.
D'après Gordon et al, 1982.

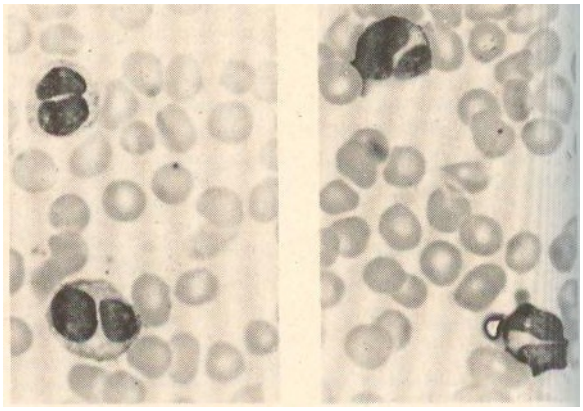


Illustration 29. Lymphocyte binucléé.
D'après Carstairs et al, 1985.

Nous pouvons constater que les deux publications initiales (Gordon et al, 1982, Carstairs et

al, 1985) montrent des images de LB (illustrations 28 et 29) avec les mêmes caractéristiques que celles établies lors de notre étude. Sur les 5 LB analysés, seules 2 cellules ne sont pas analysables concernant les nucléoles, critère que nous avions conclu comme caractéristique du LB de la LPLB et un LB présente des lobes symétriques. Le reste des critères est retrouvé à l'identique. Les représentations sont hélas en noir et blanc et de faible dimension, comme d'usage à l'époque (≤ 1985).

Il est intéressant de remarquer que dans les publications de Troussard et al, la description des cellules dans les publications s'est rapprochée au fur et à mesure jusqu'à être conforme au modèle proposé : en 1995, 3 cellules sur 9 sont non parfaitement conformes, en 2008 on retrouve tous les critères caractéristiques chez 9 LB sur 10.

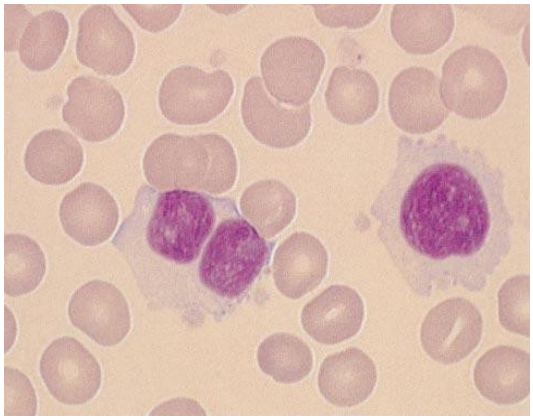


Illustration 31. Lymphocyte binucléé et monocytoïde dans la LPLB. D'après Troussard et al, 1997a.

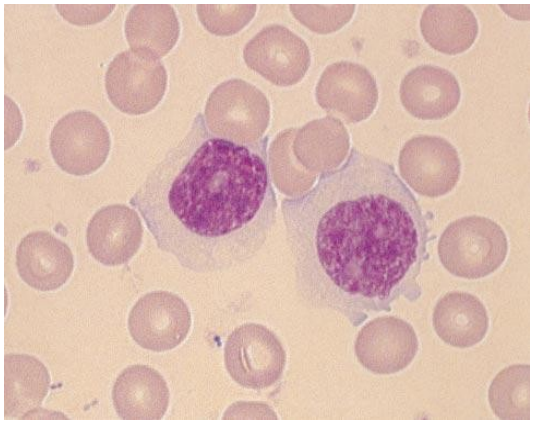


Illustration 30. lymphocytes monocytoïdes dans la LPLB. D'après Troussard et al, 1997a.

Toujours dans les travaux de Troussard et al, on remarque que les images non caractéristiques des LB se différencient par leur contours irréguliers (6 LB, illustrations 30 et 31), leurs lobes symétriques (4 LB) , leur basophilie non moyenne (5 LB, illustrations 30 et 31), leur taille non moyenne (4 LB) et l'absence de nucléole (3 LB). Concernant l'irrégularité des contours, il ne s'agit pas d'un caractère retrouvé de manière constante dans plusieurs articles mais plutôt d'une caractéristique ponctuelle retrouvée dans 3 articles seulement. Le critère de basophilie moyenne est lui aussi mis en évidence dans seulement 2 articles. Au final, il n'existe pas un seul critère non caractéristique retrouvé de manière récurrente mais plutôt des critères quelconques retrouvés ponctuellement au fil des différents articles. Les critères empiriques des auteurs concernant la morphologie des LB ont donc été les bons.

Au total, la revue de la littérature confirme les données essentielles précédemment décrites : les LB les plus typiques de la LPLB sont des cellules de taille moyenne, à contours réguliers, à noyau bilobé avec lobes asymétriques et nucléolés, cytoplasme de surface moyenne et de basophilie soutenue mais non intense (moyenne). Mais le polymorphisme est retrouvé concernant la taille (quelques cellules plus petites) et la forme des noyaux (présence régulière de formes réniformes ou monocytoïdes).

V.5.b) Cas de la littérature divergents et origine des LB

Néanmoins nous avons pu trouver quelques différences entre les descriptions morphologiques tirées de la littérature et nos analyses. Cela concerne d'une part la population lymphocytaire globale plus que les lymphocytes binucléés et, d'autre part, la catégorie des SLP. Ces cas remettent en cause la spécificité de ces cellules et nous obligent aussi à nous interroger sur l'origine de ces lymphocytes binucléés qui reste à ce jour mal connue.

Au sein des LPLB, Lanson et al (2011) présentent les lymphocytes retrouvés comme des cellules de taille augmentée, à cytoplasme étendu, faiblement basophile, avec de façon constante chez tous les patients, un noyau à contour irrégulier, de l'indentation simple à une forme bilobée voire binucléé avec persistance d'un pont chromatinien. Dans notre catégorie LPLB, outre la présence de petits lymphocytes matures retrouvés constamment, nous avons aussi mis en évidence une population lymphocytaire composée de lymphocytes monocytoïdes (taille augmentée et cytoplasme étendu) de cytoplasme moyennement basophile. Par contre, nous avons une autre catégorie de lymphocytes retrouvée fréquemment : les lymphocytes hyperbasophiles, il est d'ailleurs parfois difficile de les différencier avec les formes monocytoïdes. Cette dernière catégorie est de diagnostic cytologique plus délicat et nécessite plus de temps d'observation du frottis pour statuer. De plus, la persistance du pont chromatinien n'est pas un critère retrouvé de façon constante dans cette catégorie.

Samson et al ont présenté en 2002 le cas d'un patient de 55 ans, dont l'hémogramme mettait en évidence une hyperlymphocytose à 9,53 G/L. Le frottis sanguin montre une majorité de petits lymphocytes matures avec quand même 35 % de lymphocytes atypiques. La forme des noyaux est polymorphe allant du noyau réniforme au noyau bilobé. Le pont chromatinien est fréquent et fin. Un nucléole est souvent visible dans ces cellules. Concernant la taille, les cellules sont grandes, le cytoplasme est étendu et faiblement basophile. Excepté le caractère basophile, la description de ces cellules est finalement assez proche de ce que l'on a retrouvé dans notre étude. La technique

d'hybridation in situ en fluorescence (FISH) montre la présence d'un isochromosome +i(3)(q10), ce qui pousse l'auteur à établir un lien potentiel avec la LPLB mais l'immunophénotypage et la biologie moléculaire ont mis en évidence un lymphome de la zone marginale.

Amouroux et al (1997) ont présenté les cas de 4 patients atteints de LLC et présentant des LB. Ceux-ci sont de taille moyenne avec comme dans l'article précédent un cytoplasme faiblement basophile ; des ponts chromatiniens sont parfois retrouvés. Ces cas diffèrent un peu de notre étude qui met en évidence un cytoplasme de basophilie moyenne. En revanche on retrouve toujours cette présence inconstante du pont chromatinien. La présence de LB au cours des LLC pourrait suggérer un lien entre cellules clivées et noyaux binucléés. Cette hypothèse est à vérifier.

En 1997, Machii et al ont essayé d'établir un lien entre la présence d'une lymphocytose polyclonale retrouvée chez quatre patientes et leur symptomatologie proche d'une forme variante japonaise de la leucémie à tricholeucytes (HCL-JV). Au niveau morphologique, la population lymphocytaire retrouvée mettait en évidence des lymphocytes à contours irréguliers avec une surface cytoplasmique abondante ce qui suggère ici des lymphocytes chevelus ou tricholeucocytes, et peu de lymphocytes binucléés ont été retrouvés. De ce point de vue, la description se rapprochait d'une HCL-JV. L'étude immunophénotypique a confirmé cette hypothèse avec les marqueurs CD5−, CD11c+, CD22+, CD24−, CD25- et la présence d'IgG à leur surface. Cependant, l'étude de l'expression des chaînes légères des immunoglobulines (Ig) et le réarrangement des gènes des Ig a mis en évidence une expression polyclonale des lymphocytes B ce qui a suggéré l'hypothèse d'une LPLB. Cette hypothèse a tout de suite été infirmée dans le sens où l'on ne trouve pas de lymphocytes chevelus dans la LPLB, chacune des quatre patientes exprimaient le CD11c+, marqueur absent de la LPLB et l'augmentation des IgG chez ces patientes n'est habituellement pas retrouvée dans la LPLB.

Finalement les critères morphologiques définis lors de notre étude peuvent s'avérer utiles dans le but d'une aide au diagnostic différentiel : si nous comparons ces descriptions morphologiques au tableau descriptif des populations lymphocytaires dans les catégories LPLB, nous constatons que la description des lymphocytes de Machii et al (1997) ne correspond pas à ce que nous avons trouvé dans la catégorie des LPLB. En effet il fait état d'une majorité de lymphocytes à cytoplasme abondant, de basophilie faible avec des contours irréguliers. Dans notre étude, l'environnement lymphocytaire des LPLB est composé de lymphocytes petites et matures, de lymphocytes monocytoïdes et de lymphocytes hyperbasophiles. Les caractéristiques morphologiques des lymphocytes associées à d'autres paramètres tels que les marqueurs immunophénotypiques et la biologie moléculaire apportent une aide de plus au diagnostic

différentiel.

Troussard et al (1997a) ont essayé d'établir un lien entre la LPLB et le SLP B à tricholeucocytes en analysant 19 patients diagnostiqués LPLB. La lymphocytose était majoritairement composée de lymphocytes avec un cytoplasme abondant et de basophilie faible et un pourcentage de LB de 2 à 9 %. Ici il ne fait pas état de contours irréguliers, ce qui va plutôt en faveur d'une morphologie lymphocytaire de LPLB. Un caryotype a été fait chez 18 patients sur 19 et a mis en évidence un chromosome i(3q) chez 16 d'entre eux. Le lien entre les deux pathologies a été exclu de part la génétique et les facteurs environnementaux. Si l'on inclut les caractères morphologiques, cela va aussi en faveur d'une LPLB.

Ces cas de la littérature montrent que l'analyse morphologique des LB peut constituer une aide aux diagnostics différentiels mais qu'elle n'est pas suffisante. D'autre part, ces cellules portent les marqueurs B (CD19+, CD20+, CD22+) mais il est difficile d'en trouver l'origine exacte. Elles se rapprochent des marqueurs de la zone marginale (IgM+D, CD20+,CD5-, CD10-, CD23-, CD43-) avec l'absence de CD5 et CD10 mais on en retrouve parfois (et en proportion non négligeable) au sein des LLC qui présentent les marqueurs CD5+, CD23+, CD43+.

VI. Perspectives

Notre travail s'est inscrit dans l'étude globale des LPLB menée depuis 8 ans au CHU de Nancy, en collaboration avec le GFHC. Nous avons approfondi l'étude morphologique des cellules caractéristiques des LPLB. Une réflexion sur les critères minimums du diagnostic de la LPLB est en cours. Les critères morphologiques constitueront un des éléments de ces critères de consensus. Celui-ci est important car il constitue la première approche pratique du diagnostic (observation du frottis après constatation d'une lymphocytose par l'appareil ou bien avis demandé par le technicien devant la constatation de cellules déroutantes). Dans l'immédiat, notre étude fera l'objet d'un article (accepté, avril 2013) et sera soumise au congrès 2013 du GFHC portant sur les hémopathies lymphoïdes B matures (poster accessible sur le site teleslide du GFHC : http://teleslide.fr/web/forum3). L'ensemble du travail sur les LPLB devrait aboutir au cours de l'année 2013 à une publication internationale.

Bibliographie

Agrawal S, Matutes E, Voke J, Dyer MJS, Khokhar T, Catovski D. Persistent polyclonal B-cell lymphocytosis. Leuk res. 1994;18(10):791-5.

Amouroux I, Mossafa H, Gentilhomme O, Girot R, Flandrin G, Troussard X. Chronic Lymphocytic Leukaemia with Binucleated Lymphocytes. Leuk Lymphoma. 1997;27(5-6):533-7.

Callet-bauchu E, Renard N, Gazzo S, Poncet C, Morel D, Pagès J, Salles G, Coeur P, Felman P. Distribution of the cytogenetic abnormality +i(3)(q10) in persistent polyclonal B-cell lymphocytosis : a FICTION study in three cases. Br J Haematol. 1997;99(3):531-6.

Carr R, Fishlock K, Matutes E. Persistent polyclonal B-cell lymphocytosis 111 identical twins. Br J Haematol. 1997;96(2):272-4.

Carstairs KC, Francombe WH, Scott JG, Gelfand EW. Persistant polyclonal lymphocytosis of B lymphocytes, induced by cigarette smoking ? Lancet. 1985;1(8437):1094.

Chevalier C, Husson B, Detry G. Polyclonal B lymphocytosis with binucleated lymphocytes in a man. Am J Hematol. 2013;88(1):86.

Chow KC, Nacilla JQ, Witzig TE, Li CY. Is persistant polyclonal B lymphocytosis caused by Epstein-Barr virus ? A study with polymerase chain reaction and in situ hybridization. Am J Hematol. 1992;41(4):270-5.

Cornet E, Lesesve JF, Mossafa H, Sébahoun G, Levy V, Davi F, Troussard X;Groupe Français d'Hématologie Cellulaire (GFHC). Long-term follow-up of 111 patients with persistent polyclonal B-cell lymphocytosis with binucleated lymphocytes. Leukemia. 2009;23(2):419-22.

De Haan LD, Pouwels JG. Persistent polyclonal B-cell lymphocytosis: a case report. Ann Hematol. 2006;85(12):893-6.

Del Giudice I, Pileri SA, Rossi M, Sabattini E, Campidelli C, Starza ID, De Propris MS, Mancini F, Perrone MP, Gesuiti P, Armiento D, Quattrochi L, Tafuri A, Amendola A, Mauro FR,

Guarini A, Foa R. Histopathological and molecular features of persistant polyclonal B-cell lymphocytosis (PPBL) with progressive splenomegaly. Br J Haematol. 2009;144(5):726-731.

Delage R, Roy J, Jacques L, Bernier V, Delâge JM, Darveau A. Multiple bcl-2/Ig gene rearrangements in persistent polyclonal B-cell lymphocytosis. Br J Haematol. 1997;97(3):589-95.

Delage R, Jacques L, Massinga-Loembe M, Poulin J, Bilodeau D, Mignault C, Leblond PF, Darveau A. Persistant polyclonal B-cell lymphocytosis : further evidence for a genetic disorder associated with B-cell abnormalities. Br J Haematol. 2001;114(3):666-70.

fmc.med.univ-tours.fr

Gil-Fernandez JJ, Blas Carlos, Fernandez-Ranada JM. Persistent polyclonal B-cell lymphocytosis in a middle-aged, smoking woman with typical morphologic and genetic hallmarks. Haematologica. 2001;86(9):1007.

Gordon DS, Jones BM, Browning SW, Spira TJ, Lawrence DN. Persistent polyclonal lymphocytosis of B lymphocytes. N Engl J Med. 1982;307(4):232-6.

Granados E, Llamas P, Pinilla J, Tomâs JF, Font P, Câmara K Olmeda F, Arranz R, Fernândez-Rafiada JM. Persistent polyclonal B lymphocytosis with multiple bcl-2/JgH rearrangements: a benign disorder. Haematologica. 1998;83(4):369-75.

Himberlin C, Kolb B, Delaby P, Blaise AM, Le Berruyer, Daliphard S, Pennaforte JL. La lymphocytose polyclonale avec lymphocytes sanguins binucléés : une entité à ne pas méconnaître. Rev Méd Interne. 2002;23(S5):592-93.

Himmelmann A, Rüegg R, Fehr J. Familial persistent polyclonal B-cell lymphocytosis.
Leuk Lymphoma. 2001;41(1-2):157-60.

Janel A, Bonnemoy S, Mathevon T, Sapin V. Pseudo-kaliémie et leucémie lymphoïde chronique: à propos d'un cas. Ann Biol Clin. 2009;67(3):338-42.

Jaubert D, de Jaureguiberry JP, Marlier S. Role of Epstein-Barr virus infection in polyclonal binucleated B-cell lymphocytosis. Presse Med. 1997;26(32):1531.

Lanson B, Lellouche F, Mossafa H, Troussard X. Chronic lymphocytic leukemia with unusual morphologic features simulating the diagnosis of polyclonal lymphocytosis with binucleated lymphocytes. Hématologie 2011. 17(1):89-92.

Lawlor E, Murray M, O'Briain DS, Blaney C, Foroni L, Sarsfield P, Condell D, Sullivan F, McCann SR. Persistent polyclonal B lymphocytosis with Epstein-Barr virus antibodies and subsequent malignant pulmonary blastoma. J Clin Pathol. 1991;44(4):341–342.

Leclerc M, Lesesve JF, Gaillard B, Troussard X, Tourbah A, Debouverie M, Daliphard S, Delmer A. Binucleated lymphocytes in patients with multiple sclerosis treated with natalizumab. Leuk Lymphoma. 2011;52(5):910-2.

Lesesve JF, Cornet E, Mossafa H, Troussard X. Lymphocytose B polyclonale à lymphocytes binucléés. Rev Prat. 2008a;59:32.

Lesesve J, Palmiéri A, Brion A, Feugier P, Mahé B, Garand R; Groupe Ouest Est des Leucémies et Autres Maladies du Sang (GOELAMS). Evaluation of morpho/immunological telehaematology file exchanges for the inclusion of patients with chronic lymphocytic leukaemia in a therapeutic trial. Int J Lab Hematol. 2008B;30(3):256-8.

Lesesve JF, Garand R. Evaluation of a telemedicine system for the transmission of morpho/immunological data aiming at the inclusion of patients in a therapeutic trial. Int J Telemed Appl. 2009;2009:767145.

Lesesve JF, Cornet E, Mossafa H, Braun F, Dorvaux V, Troussard X. Familial cases of persistent polyclonal B-cell lymphocytosis with binucleated lymphocytes. Blood, letter, 2011a Dec 23.

Lesesve JF, Debouverie M, Decarvalho Bittencourt M, Béné MC. CD49d blockade by natalizumab therapy in patients with multiple sclerosis increases immature B lymphocytes. Bone Marrow Transplant. 2011b;46(11):1489-91.

Lesesve JF, Troussard X. Persistent polyclonal B-cell lymphocytosis. Blood. 2011c;118(25):6485.

Loembé MM, Néron S, Delage R, Darveau A. Analysis of expressed V(H) genes in persistent polyclonal B cell lymphocytosis reveals absence of selection in CD27+IgM+IgD+ memory B cells. Eur J Immunol. 2002;32(12):3678-88.

Machii T, Yamaguchi M, Inoue R, Tokumine Y, Kuratsune H, Nagai H, Fukuda S, Furuyama K, Yamada O, Yahata Y, Kitani T. Polyclonal B-cell lymphocytosis with features ressembling hairy cell leukemia-Japanese variant. Blood. 1997;89(6):2008-14.

Marchal L. La lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés : exploration phénotypique et fonctionnelle. Mémoire du diplôme d'études spécialisées de biologie médicale. Nancy : Université Henri Poincaré, Nancy 1, 2012.

Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, Garcia Marco J, Houlihan A, Que TH, Catovsky D. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. Leukemia. 1994;8(10):1640-5.

Mossafa H, Troussard X, Valensi F, Schillinger F, Maynadie M, Bulliard G, Macintyre E, Flandrin G. Isochromosome i(3q) and premature chromosome condensation are recurrent findings in chronic B-cell lymphocytosis with binucleated lymphocytes. Leuk Lymphoma. 1996;20(3-4):267-73.

Mossafa H, Malaure H, Maynadie M, Valensi F, Schillinger F, Garand R, Jung G, Flandrin G, Troussard X et le groupe français d'hématologie cellulaire (GFHC). Persistent polyclonal B lymphocytosis with binucleated lymphocytes: a study of 25 cases. Br J Haematol. 1999;104(3):486-93.

Putzki N, Baranwal NK, Tettenborn B, Limmroth V, Kreuzfelder E. Effects of natalizumab on circulating B cells, T regulatory cells and natural killer cells. Eur Neurol. 2010;63(5):311-7.

Reimer P, Weibinger F, Tony HP, Koniczek KH, Wilheim M. Persistent polyclonal B-cell lymphocytosis - an important differential diagnosis of B-cell chronic lymphocytic leukaemia. Ann Hematol. 2000;79(6):327-31.

Rodriguez JN, Diéguez Jc, Martino ML, Prados D. Persistent polyclonal B lymphocytosis. Am J Hematol. 1996;51(3):246-7.

Roussel M, Mossafa H, Troussard x., GFHC. Lymphocytose polyclonale avec lymphocytes sanguins binucléés. Hématol. 2004;10:169-72.

Roy-Taranger M, Mayaud G, Davydoff-Alibert S. Binuclear lymphocytes in the blood of individuals irradiated by a low dose. Rev Fr Etud Clin Biol. 1965;10(9):958-65.

Samson T, Mossafa H, Lusina D, Fagot T, Souleau B, de Revel T, Troussard X, Nedellec G. Dicentric chromosome 3 associated with binucleated lymphocytes in atypical B-cell chronic lymphoproliferative disorder. Leuk Lymphoma. 2002;43(9):1749-54.

Schmidt-Hieber M, Burmeister T, Weinmann A, Nagorsen D, Hofmann WK, Thiel E, Schwartz S. Combined automated cell and flow cytometric analysis enables recognition of persistent polyclonal B-cell lymphocytosis (PPBL), a study of 25 patients. Ann Hematol. 2008;87:829-836.

Siri A, Debouverie M, Lesesve JF, Latarche C. Caractérisation de la lymphocytose chez les patients SEP traités par natalizumab. Le poster pour les JNLF 2013.

Sokolowska J. Lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés : une série monocentrique de 33 patient(e)s. Mémoire du diplôme d'études spécialisées de biologie médicale. Nancy : Université Henri Poincaré, Nancy 1, 2009.

Tessier-Marteau A, Le Corre Y, Gérard J, Avenel-Audran M, Geneviève F, Verret JL, Zandecki M. Recherche de cellules de Sézary dans le sang périphérique : morphologie ou immunophénotype ? Ann Biol Clin. 2008;66(4):447-53.

Thieblemont C, Leblond V. Lymphomes de la zone marginale. EMC, Hématologie. 13-016-A-31, 2008.

Tonelli S, Vanzanelli P, Sacchi S, Fiorani C, Castelli I, Temperani P, Bonacorsi G.Persistant polyclonal B lymphocytosis : morphological, immunological, cytogenetic and molecular analysis of an italian case. Leuk Res. 2000;24(10):877-9.

Troussard X, Valensi F, Debert C, Maynadie M, Schillinger F, Bonnet P, Macintyre EA, Flandrin G. Persistant polyclonal lymphocytosis with binucleated B lymphocytes : a genetic predisposition. Br J Haematol. 1994;88(2):275-80.

Troussard X, Valensi F, Mossafa H. Lymphocytose polyclonale avec lymphocytes sanguins binucléés. Hématologie. 1995;1(2):145-7.

Troussard X, Flandrin G. Chronic B-cell lymphocytosis with binucleated lymphocytes (LWBL) : a review of 38 cases. Leuk lymphoma. 1996;20(3-4):275-9.

Troussard X, Mossafa H, Flandrin G. Identity between hairy B-cell lymphoproliferative disorder and persistent polyclonal B lymphocytosis? Blood. 1997a;90(5):2110-3.

Troussard X, Mossafa H, Valensi F, Maynadie M, Schillinger F, Bulliard G, Malaure H, Flandrin G. Polyclonal lymphocytosis with binucleated lymphocytes. Morphological, immunological, cytogenetic and molecular analysis in 15 cases. Presse Med. 1997b;26(19):895-9.

Troussard X, Mossafa H, Flandrin G. Persistent polyclonal B-cell lymphocytosis. Ann Biol Clin. 2002;60(3):273-80.

Troussard X. Diagnosis, prognosis and treatment in patients with a chronic lymphoid leukaemia. Immuno-analyse et biologie specialisée. 2007;22(5):313-318.

Troussard X, Cornet E, Lesesve JF, Kourel C, Mossafa H. Polyclonal B-cell lymphocytosis with binucleated lymphocytes (PPBL). Onco Targets Ther. 2008;1:59-66.

Troussard X, Cornet E. Leucémie à tricholeucocytes. Hématologie. 2010;16(6):432-42.

Troussard X, Malet M, Cornet E. Early phase in chronic B cell leukemia and monoclonal B cell lymphocytosis. RFL. 2011;433:47-53.

Vignes S, Oksenhendler E, Quint L, Daniel MT, Mariette X, Clauvel JP. Polyclonal B lymphocytosis and hyper-IgM: immunodeficiency and/or benign lymphoid proliferation associated with tobacco? Rev Med Interne. 2000;21(3):236-41.

Vincenot-Blouin A, Timbely 0, Abarah-Atassi W, Mossafa H, Allard C, Michel F, André-Kerneïs E. Binucleated lymphocyte lymphocytosis. Ann Biol Clin. 2003;61(4):454-7.

Woessner S, Florensa L, Espinet B. Bilobulated circulating lymphocytes in persistent polyclonal B-cell lymphocytosis. Haematologica. 1999;84(8):749.

Xochelli A, Baliakas P, kanellis G. Persistant polyclonal b-cell lymphocytosis : a diagnostic challenge. Eur J Haematol. 2012 Nov 27.

Patient			Hémogramme				Morphologie des cellules lymphoïdes (hors LB)												Lymphocytes binucléés		Immunophénotypage			
n°	Age	Diagnostic retenu : LPLB	Hb (g/L)	Plq (G/L)	Leuco (G/L)	Ly (G/L)	Lymphocytes matures	Lymphocytes clivés	Lymphoplasmocytes	Lymphocytes monocytoides	Prolymphocytes	Lymphocytes en fleur	Lymphocytes convolutés	Lymphocytes hyperbasophiles	Centroblaste/immmunoblaste	Villosités membranaires	Ombres nucléaires	Mitoses	Apoptoses	Pourcentage (des lymphocytes)	Morphologie typique/atypique	CD19 (G/L)	CD4 (G/L)	CD8 (G/L)	CD56 (G/L)
1	58	iso3q	15,6	16	12,66	5,82	+	+	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+	3	typ	2,33	2,271	0,582	0,641
2	46	iso3q	NR	NR	NR	4	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	2,5	typ	2,56	NR	NR	NR
3	36	iso3q	14	170	10,6	5,2	+	-	-	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-	6	typ/atyp	2,55	NR	NR	NR
4	41	iso3q	15,3	190	10,4	4,16	+++	+	-	++	-	-	-	++	-	-	-	-	-	5	typ	2,538	0,957	0,416	0,249
5	41	iso3q	13,5	172	10,52	5,26	++	-	-	+	-	-	-	++	-	-	-	-	+	3	typ	2,592	1,342	0,555	0,14
6	38	iso3q	12,4	179	11,7	5,1	+	-	+	++	-	+	-	-	-	-	-	-	-	2	typ	1,79	NR	NR	NR
7	34	iso3q	15,4	7,5	13	6,825	+++	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	5	typ	5,508	1,836	0,835	0,167
8	35	iso3q	12,2	245	13,47	9,42	+++	-	-	+	-	-	-	++	-	-	-	-	+	4	typ	5,957	1,805	0,632	0,631
9	48	iso3q	12,8	197	11,96	6,339	+++	+	+	++	-	-	-	++	-	-	-	-	-	8	typ	3,53	1,469	0,588	0,289
10	37	iso3q	13,4	133	12,53	10,03	+++	+	+	++	-	-	-	++	-	-	-	-	-	10	typ	6,049	1,69	0,534	0,623
11	35	iso3q	11,9	488	10,1	1,919	+++		-	+	-	-	-	++	-	-	-	-	-	10	typ/atyp	0,911	0,499	0,282	0,477
12	40	iso3q	13,2	215	14,2	9,51	++	+	-	++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	5	typ/atyp	5,723	1,673	0,880	0,528
13	38	iso3q	14,9	298	9,5	5,42	+++	+	-	++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	7	typ/atyp	3,077	2,009	0,7	0,493
14	38	sans iso3q	13,2	308	8,45	3,89	+++	+	-	++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	3	typ	1,227	1,115	1,078	0,298
15	38	sans iso3q	13,7	299	9,3	4,557	+++	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	typ	1,823	1,823	0,592	0,319
16	48	sans iso3q	14,1	323	12,51	5,26	+++	+	+	++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	8	typ	3,15	0,95	0,74	0,38
17	45	sans iso3q	15,1	206	8,14	4,48	+++	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	5	typ	3 ,31	2,55	0,83	0,21
18	47	sans iso3q	14,3	229	11,15	5,91	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	typ	1,806	1,957	1,004	0,255
19	56	sans iso3q	13,9	382	9,46	3,31	+++	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	3	typ	0,795	1,656	0,497	0,363
20	38	sans iso3q	12.3	332	13.11	4.85	+++	+	-	++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	2	typ	1.51	2.03	0.661	0.52
21	18	sans iso3q	13.1	287	17.76	9.05	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	typ	5.525	2.174	0.906	0.453
22	35	sans iso3q	13.8	135	8.46	4.65	+++	-	-	+	-	-	-	++	-	-	-	-	-	6	typ	2.559	1.303	0.419	0.374
23	57	sans iso3q	12.4	392	16.8	5.88	+++	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1	typ	4.05	0.55	0.3	0.1
24	38	sans iso3q	12.7	330	18.93	4.71	+++	+	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	3	typ	1.312	1.511	0.875	0.273
25	18	sans iso3q	15,2	162	11,78	7,421	+++	+	-	++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	10	typ	4,898	1,187	1,113	0,223
26	42	sans iso3q	14.4	241	11	4.73	+++	+	-	++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	9	typ	2,764	1,541	0,638	0,372

Tableau 1. Morphologie des lymphocytes dans la lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés avec et sans iso3q.

- = absence de lymphocyte
+ = 1 à 33 % des lymphocytes
++ = 34 à 66 % des lymphocytes
+++ = 67 à 99 % des lymphocytes
++++ = 100 % des lymphocytes

Hb = hémoglobine
Plq = plaquettes
Leuco = leucocytes
Ly = lymphocytes
Typ = typique ; atyp = atypique

G/L = *10^9/L
NR = non renseigné

Patient			Hémogramme				Morphologie des cellules lymphoïdes												Lymphocytes binucléés		Immunophénotypage			
n°	Age	Diagnostic retenu	Hb (g/L)	Plq (G/L)	leuco (G/L)	Ly (G/L)	Lymphocytes matures	Lymphocytes clivés	Lymphoplasmocytes	Lymphocytes monocytoides	Prolymphocytes	Lymphocytes en fleur	Lymphocytes convolutés	Lymphocytes hyperbasophiles	Centroblaste/immmunoblaste	Villosités membranaires	Ombres nucléaires	Mitoses	Apoptoses	Pourcentage (des lymphocytes)	Morphologie typique/atypique	CD19 (G/L)	CD4 (G/L)	CD8 (G/L)	CD56 (G/L)
1	36	Réactionnel	14,9	462	12,17	6,28	++	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	<<1	atyp	0,993	2,227	1,307	0,372
2	41		13,5	289	14,83	5,34	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	<1	atyp/typ	1,228	2,830	1,175	0,160
3	34		14,3	364	13,45	6,5	+++	+		+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	10	typ	1,412	1,453	0,484	0,363
4	49		15,7	256	10,94	2,85	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	<<1	typ	0,340	1,735	0,370	0,199

Tableau 2. Morphologie des lymphocytes dans les syndromes réactionnels divers.

- = absence de lymphocyte
+ = 1 à 33 % des lymphocytes
++ = 34 à 66 % des lymphocytes
+++ = 67 à 99 % des lymphocytes
++++ = 100 % des lymphocytes

Hb = hémoglobine
Plq = plaquettes
Leuco = leucocytes
Ly = lymphocytes
Typ = typique ; atyp = atypique

G/L = *10^9/L

Patients		Morphologie des cellules lymphoïdes													Lymphocytes binucléés	
n°	Diagnostic retenu	Lymphocytes matures	Lymphocytes clivés	Lymphoplasmocytes	Lymphocytes monocytoides	Prolymphocytes	Lymphocytes en fleur	Lymphocytes convolutés	Lymphocytes hyperbasophiles	Centroblaste/immmunoblaste	Villosités membranaires	Ombres nucléaires	Mitoses	Apoptoses	Pourcentage	Morphologie typique/atypique
31	SEP (avec natalizumab)	+++ (96%)	+ (86%)	– (72%)	– (91%)	– (100%)	– (100%)	– (100%)	+ (72%)	– (100%)	– (100%)	+ (100%)	– (100%)	– (67%)	<1 à 1% (91%)	typiques (86%)
9	SEP (sans natalizumab)	+++ (56%)	+ (78%)	– (89%)	+ (89%)	– (100%)	– (89%)	– (100%)	+ (67%)	– (100%)	– (100%)	+ (100%)	– (100%)	– (89%)	<1 (67%)	typiques (100%)

Tableau 3. Morphologie des lymphocytes dans les scléroses en plaque (SEP) avec ou sans traitement par natalizumab (données groupées pour la mise en page.

- = absence de lymphocyte
+ = 1 à 33 % des lymphocytes
++ = 34 à 66 % des lymphocytes
+++ = 67 à 99 % des lymphocytes
++++ = 100 % des lymphocytes

Patient			Hémogramme				Morphologie des cellules lymphoïdes												Lymphocytes binucléés		Immunophénotypage			
n°	Age	Diagnostic retenu	Hb (g/L)	Plq (G/L)	Leuco (G/L)	Ly (G/L)	Lymphocytes matures	Lymphocytes clivés	Lymphoplasmocytes	Lymphocytes monocytoides	Prolymphocytes	Lymphocytes en fleur	Lymphocytes convolutés	Lymphocytes hyperbasophiles	Centroblaste/immunoblaste	Villosités membranaires	Ombres nucléaires	Mitoses	Apoptoses	Pourcentage des lymphocytes	Morphologie typique/atypique	B (G/L)	CD4 (G/L)	CD8 (G/L)	CD56 (G/L)
1	62	LLC	NR	NR	21,65	17,75	++	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	1	atyp	14,557	1,597	0,710	0,711
2	55	LLC	NR	NR	15,64	8,758	++	++	-	+	-	+	++	+	-	-	+	-	-	7	typ/atyp	6,043	0,135	0,135	0,788
3	73	LLC	14	129	9,58	6,9	+++	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	1	typ/atyp	5,380	0,759	0,345	0,345
4	53	LLC	14,6	219	18,12	10,328	+++	-		-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	<1	typ/atyp	7,436	1,343	0,413	0,930
5	46	LLC	13,1	262	68,17	63,4	+++	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	22	typ	41,468	0,063	0,021	8,923
6	74	LLC	10,6	343	10,8	3,24	++	+		+	+	++	++	-	-	++	-	-	-	2	typ	1,156	0,440	0,080	0,280
7	112	LZM	10,1	147	23,3	17,94	+	-	+++	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	<1	atyp	13,815	0,251	0,430	0,538
8	NR	LZM	NR	NR	NR	NR	+++	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	atyp	14,54	3,08	1,44	1,4
9	83	LZM	NR	NR	32,3	26,81	-	-	-	++	-	-	+	-	+++	-	+	-	-	2	typ	21,715	1,877	2,145	0,805
10	93	Waldenström	12,4	349	11,71	4,684	++	+		+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	atyp	2,810	0,937	0,375	0,516
11	73	Waldenström	8,9	25	0,96	0,38	+++	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	<1	typ/atyp	NR	NR	NR	NR
12	77	LM	10,9	120	17	13	+	-	-	++	-	-	++	-	+	+	+	-	-	11	typ/atyp	NR	NR	NR	NR
13	43	LF	13,2	171	9,04	2,44	++	++	-	+	-	+	++	-	-	-	-	-	-	8	atyp	2,241	0,502	0,167	0,402
14	70	Lymphome T	11,4	228	12,11	8,2	++	++		-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	8	typ	0,801	4,233	0,229	0,229
15	95	LP B	9,4	139	112	3,36	+	-	-	+	+++	+	+	-	-	-	+	-	-	1	atyp	107,52	NR	NR	3,360
16	75	LP T	9	87	681,5	34	-	-		-	++++	-	-	-	-	-	+++	-	-	3	typ/atyp	0	630422	0	6,570
17	64	LBDGC	12,7	358	9,83	4,33	+++	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	1	typ/atyp	1,384	0,779	0,995	0,865

Tableau 4. Morphologie des lymphocytes dans les syndromes lymphoprolifératifs (SLP) avec hémogramme et immunophénotypage.

- = absence de lymphocyte
+ = 1 à 33 %
++ = 34 à 66 % des lymphocytes
+++ = 67 à 99 % des lymphocytes
++++ = 100 % des lymphocytes

Hb = hémoglobine
Plq = plaquettes
Leuco = leucocytes
Ly = lymphocytes
LLC = leucémie lymphoïde chronique

LZM = lymphome de la zone marginale
LM = lymphome du manteau
LF = lymphome folliculaire
LP = leucémie à prolymphocytes
LBDGC = Lymphome B diffus à grandes cellules

G/L = *10^9/L
NR = non renseigné

Patient		Cellules analysées			Cytoplasme									Noyau											
N°	Diagnostic	Petite	Moyenne	Grande	Surface			Basophilie			Coutour	Contenu		Forme				Nucléoles	Lobes	Ponts					
	LPLB	<2 GR	2GR-3GR	>3 GR	Faible	Etendue	Très étendue	Faible	Moyenne	Forte	Villosités	Grains	Vacuole	Lobée	Monocytoïde	Réniforme	Clivée		Tendance	Sans pont	Polaire épais	Polaire fin	Excentré épais	Excentré fin	Médian épais	Médian fin
1	iso3q	+	+++	-	+	+	++	-	++++	-	_	+	+	++	+	+	-	+	asym	+	-	+	+	+	+	+
2	iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	-	+	+++	-	+	-	+	asym	+	+	+	+	++	+	-
3	iso3q	++	++	-	++	++	-	-	++++	-	_	-	+	++	+	+	-	++	asym	+++	-	-	+	-	-	-
4	iso3q	-	++++	-	-	++++	-	-	++++	-	_	-	+	++	+	+	+	+	asym	++	-	++	-	-	-	-
5	iso3q	+	+++	-	++	++	-	-	++++	-	_	-	+	++	-	+	+	+	asym	++	+	+	-	-	-	-
6	iso3q	+	+++	-	+	+++	+	-	++++	-	_	-	+	++	+	+	-	++	asym	++	+	+	-	+	-	-
7	iso3q	+	++	+	++	++	-	-	++++	-	_	-	+	++	+	+	+	++	asym	+	-	+	+	+	+	+
8	iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	+	++	++	++	+	-	+	asym	-	+	-	-	+	-	+
9	iso3q	-	++++	-	-	++++	-	-	++++	-	_	+	+	++	++	+	-	+	asym	+	+	+	+	-	+	+
10	iso3q	-	++++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	-	+	++	+	+	-	+	asym	+	+	+	+	+	-	-
11	iso3q	-	++++	-	-	++++	-	-	++++	-	_	-	-	+++	+	+	-	++	asym	-	+++	+	+	+	-	-
12	iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	-	-	+++	-	+	-	+	asym	+	+	+	+	+	+	+
13	iso3q	-	+	+++	-	++	++	-	++++	-	_	-	++	++	+	+	-	+	égalité	+	+	+	+	-	+	-
14	sans iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	-	-	+++	+	+	-	++	asym	+	+	+	+	+	-	+
15	sans iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	+	+	++	+	+	-	+	asym	+	++	+	+	+	+	-
16	sans iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	-	+	+++	+	+	-	+	asym	+	++	+	-	+	+	-
17	sans iso3q	+	+++	+	+	+++	-	-	++++	-	_	-	+	++	+	++	+	+	asym	+	++	+	+	-	-	+
18	sans iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	-	-	++	+	+	-	++	asym	+	+	-	+	+	+	-
19	sans iso3q	++	++	-	++	++	-	-	++++	-	_	+	-	++	+	+	-	+	asym	+	++	+	+	+	+	-
20	sans iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	-	-	++	+	+	-	+	asym	+	+	-	++	+	+	-
21	sans iso3q	+	+++	+	+	+++	-	-	++++	-	_	-	-	++	+	+	-	+	asym	++	+	+	+	+	-	-
22	sans iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	+	+	++	+	+	-	+	égalité	+	+	-	+	+	+	+
23	sans iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	+	+	++	+	++	-	+	asym	-	++	-	+	-	+	-
24	sans iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	-	-	++	++	+	-	+	asym	+	+	+	+	+	+	-
25	sans iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	-	-	+++	+	+	-	+	asym	+	+	+	+	+	-	-
26	sans iso3q	+	+++	-	+	+++	-	-	++++	-	_	-	+	+++	-	+	-	+	asym	+	+	+	+	+	-	-

Tableau 5. Caractéristiques des lymphocytes binucléés (LB) dans la lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés (LPLB) avec ou sans iso3q.

- = absence de LB
+ = 1 à 33 % des LB
++ = 34 à 66 % des LB
+++ = 67 à 99 % des LB
++++ = 100 % des LB
Sym = symétrique
Asym = asymétrique

Annexe 6

Patient		Cellules analysées			Cytoplasme									Noyau											
N°	Diagnostic	Petite	Moyenne	Grande	Surface			Basophilie			Coutour	Contenu		Forme				Nucléoles	Lobes	Ponts					
		<2 GR	2GR-3GR	>3 GR	Faible	Etendue	Très étendue	Faible	Moyenne	Forte	Villosités	Grains	Vacuole	Lobée	Monocytoïde	Réniforme	Clivée		Tendance	Sans pont	Polaire épais	Polaire fin	Excentré épais	Excentré fin	Médian épais	Médian fin
1	réactionnel	+++	+	-	++	++	-	++	++	-	-	-	-	+++	+	-	-	-	égalité	+	-	-	-	-	++	-
2	réactionnel	-	+++	+	-	++++	-	++	+	+	-	-	-	+++	-	+	-	-	sym	+	+	-	-	-	-	+
3	réactionnel	+	+++	-	+	+++	+	++	++	-	+	+	-	+++	-	+	-	-	asym	++	-	-	+	-	-	-
4	réactionnel	-	++++	-	-	++++	-	-	++++	-	-	-	-	+++	-	+	-	-	sym	+	+	-	-	-	-	-
5	SEP	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	-	-	-	-	+	-	-
6	SEP	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	++++	-	-	-	-	asym	+	+	+	-	-	-	-
7	SEP	-	+	-	+	0	-	-	+	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	sym	+	-	-	-	-	-	-
8	SEP	-	-	+	-	0	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+++	-	-	sym	-	+	-	-	-	-	-
9	SEP	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	égalité	+	-	-	-	-	-	+
10	SEP	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	++++	-	-	-	-	asym	+	-	-	-	-	+	-
11	SEP	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	+	+	-	-	-	-	-
12	SEP	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	+	-	+	-	-	-	-
13	SEP	+	++	+	+	++	+	+++	+	-	-	-	+	++++	-	-	-	-	asym	++	+	+	-	-	-	-
14	SEP	-	++	++	-	++	++	-	++++	-	++	-	-	++++	-	-	-	-	asym	-	-	++++	-	-	-	-
15	SEP	-	++++	-	++	++	-	++	++	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	égalité	++++	-	-	-	-	-	-
16	SEP	+	+++	-	+	+++	-	++++	-	-	-	-	+++	++++	-	-	-	-	asym	-	-	+	-	-	+++	-
17	SEP	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	-	-	-	-	-	-	+
18	SEP	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	sym	-	+	-	-	-	-	-
19	SEP	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	-	-	-	-	-	-	+
20	SEP	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	-	+	-	-	-	-	-
21	SEP	-	++++	-	+	+++	-	-	+++	+	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	-	+	+++	-	-	-	-
22	SEP	+	+++	-	+++	+	-	+++	+	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	sym	+	-	+	-	+	-	-
23	SEP	-	++++	-	++	++	-	++++	-	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	égalité	-	++	++	-	-	-	-
24	SEP	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	sym	-	-	-	-	+	-	-
25	SEP	+++	+	-	+	+++	-	+	+++	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	sym	-	-	+++	-	+	-	-
26	SEP	-	++++	-	-	++++	-	-	++++	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	sym	-	+	-	-	+	+	-
27	SEP	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	sym	-	-	+	-	-	-	-
28	SEP	-	++++	-	-	++++	-	-	++++	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	égalité	-	-	++++	-	-	-	-
29	SEP	-	++	++	-	++	++	-	++++	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	-	-	++++	-	-	-	-
30	SEP	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	-	-	-	-	-	-	-
31	SEP	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	-	+	-	-	-	-	-
32	SEP	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	-	-	+	-	-	-	-
33	SEP	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	+	-	-	-	-	-	-
34	SEP	-	++++	-	-	++++	-	++++	-	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	-	-	++++	-	-	-	-
35	SEP	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	-	-	-	-	+	-	-

Tableau 6. Caractéristiques des lymphocytes binucléés (LB) dans les syndromes réactionnels divers et dans la sclérose en plaque (SEP) avec natalizumab.

- = absence de LB
+ = 1 à 33 % des LB
++ = 34 à 66 % des LB
+++ = 67 à 99 % des LB
++++ = 100 % des LB
Sym = symétrique
Asym = asymétrique

Patient		Cellules analysées			Cytoplasme									Noyau											
N°	Diagnostic	Petite	Moyenne	Grande	Surface			Basophilie			Coutour	Contenu		Forme				Nucléoles	Lobes	Ponts					
		<2GR	2GR-3GR	>3GR	Faible	Etendue	Très étendue	Faible	Moyenne	Forte	Villosités	Grains	Vacuole	Lobée	Monocytoïde	Réniforme	Clivée		Tendance	Sans pont	Polaire épais	Polaire fin	Excentré épais	Excentré fin	Médian épais	Médian fin
1	LLC	-	+++	+	-	+++	+	+	++	+	+	+	+	++	-	+	+	+	asym	-	+	-	+	-	+	-
2	LLC	+	+++	-	++	++	-	-	++++	-	-	+	-	++	-	+	+	-	sym	-	+	-	-	-	+	-
3	LLC	-	++++	-	+	++	-	-	++++	-	-	-	-	+++	-	-	+	-	asym	++	-	-	-	-	-	-
4	LLC	-	+++	+	-	++++	-	-	++++	-	-	-	-	++	+	+	-	-	sym	+	-	-	-	+	-	-
5	LLC	++++	-	-	++++	-	-	-	++++	-	-	-	-	++	-	+	+	+	égalité	+	+	+	+	+	+	+
6	LLC	-	+++	+	-	++++	-	-	++++	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	+++	-	-	-	+	-	-
7	LZM	-	++++	-	-	++++	-	+	+++	-	-	-	++	++++	-	-	-	+	asym	-	+	+	++	+	+	+
8	LZM	+	+++	+	+	+++	+	+	+	++	-	-	+	++	+	+	-	-	asym	+	+	+	+	+	-	-
9	LZM	-	+++	-	+++	+	-	-	+++	-	-	-	-	++	+	+	-	++	égalité	+	+	-	+	-	-	-
10	Waldenström	+	+++	+	+	+++	+	+++	+	-	-	+	-	++	+	+	+	+	asym	+	+	+	+	+	-	+
11	Waldenström	-	++++	-	+	+++	-	+	+++	-	-	-	-	+++	-	+	-	-	sym	+++	-	-	-	-	-	-
12	LCM	-	+++	+	+	++	+	+	+++	-	+	-	-	++	+	++	+	+	asym	+	++	+	+	-	+	-
13	LF	+	++	+	++	++	+	++	++	-	-	-	-	++	+	+	+	-	asym	++	+	+	+	-	-	+
14	Lymphome T	+++	+	-	-	++++	-	++++	-	-	-	-	-	+	-	-	+++	-	sym	+	-	-	-	-	-	-
15	LP-B	+	+++	+	-	+++	+	+	+++	-	+	-	+	++	+	-	+	+	asym	+	+	+	+	-	+	-
16	LP-T	+	+++	-	+	+++	-	-	+++	+	-	-	-	+++	-	+	-	+	sym	+++	-	-	-	-	-	-
17	LBDGC	-	+++	+	-	++++	-	-	++++	-	-	-	-	++++	-	-	-	-	asym	+++	-	-	-	+	-	-

Tableau 7. Caractéristiques des lymphocytes binucléés (LB) dans les syndromes lymphoprolifératifs chroniques.

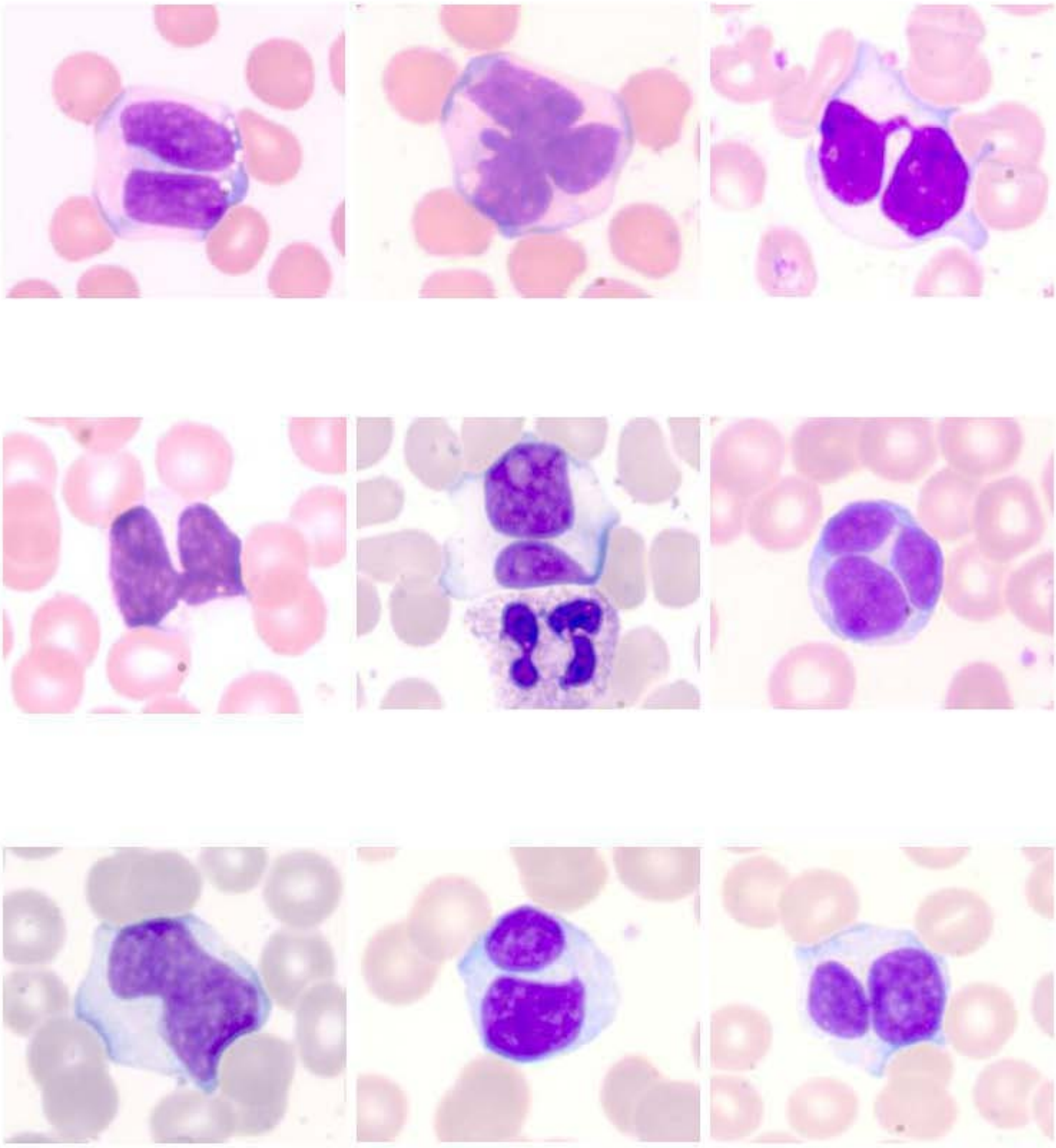
- = absence de LB
+ = 1 à 33 % des LB
++ = 34 à 66 % des LB
+++ = 67 à 99 % des LB
++++ = 100 % des LB

LLC = leucémie lymphoïde chronique
LZM = lymphome de la zone marginale
LM = lymphome du manteau
LF = lymphome folliculaire
LP = leucémie à prolymphocytes

LBDGC = lymphome B diffus à grandes cellules
Asym = asymétrique
Sym = symétrique

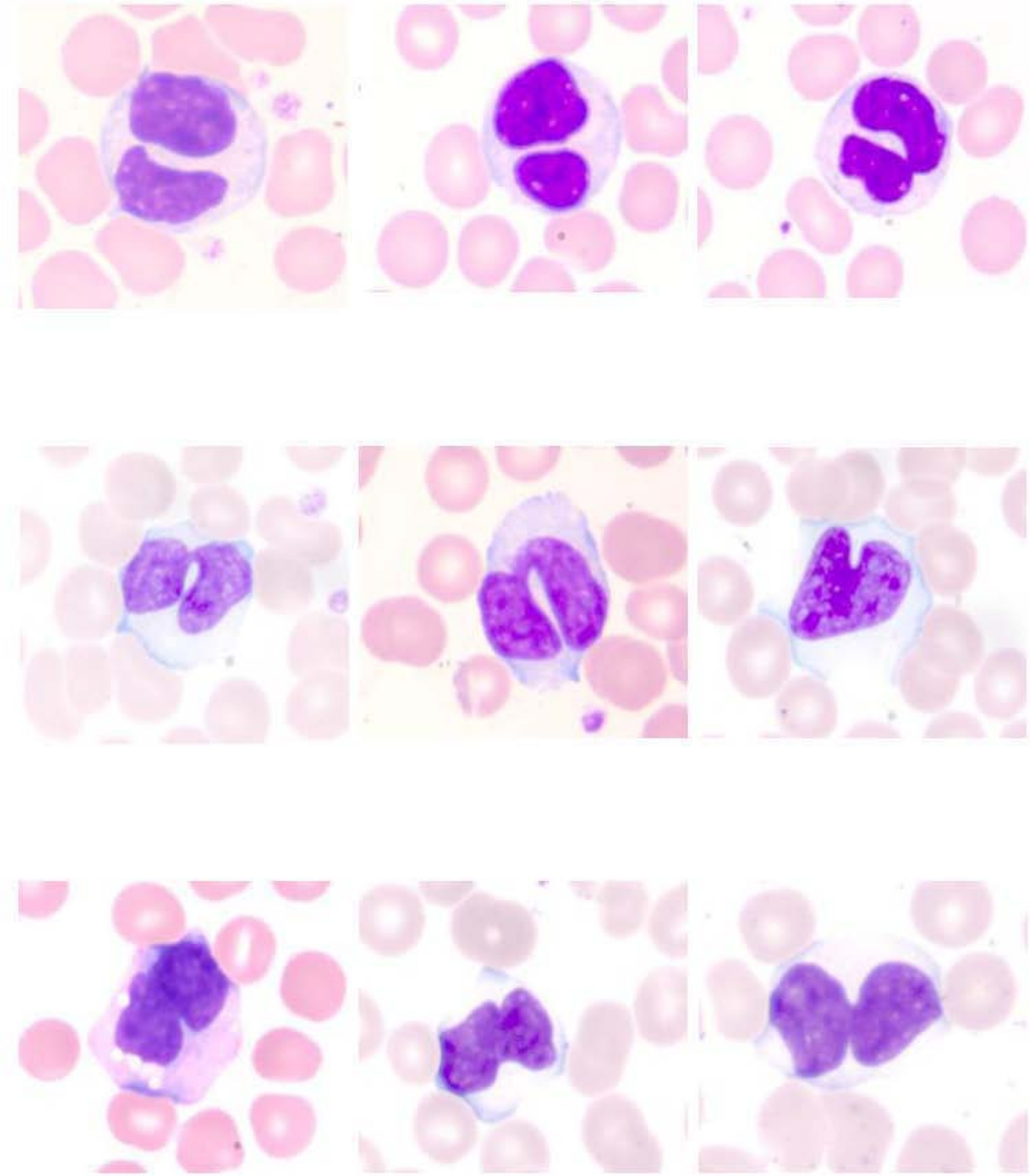
Annexe 8

Lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés avec anomalie iso3q



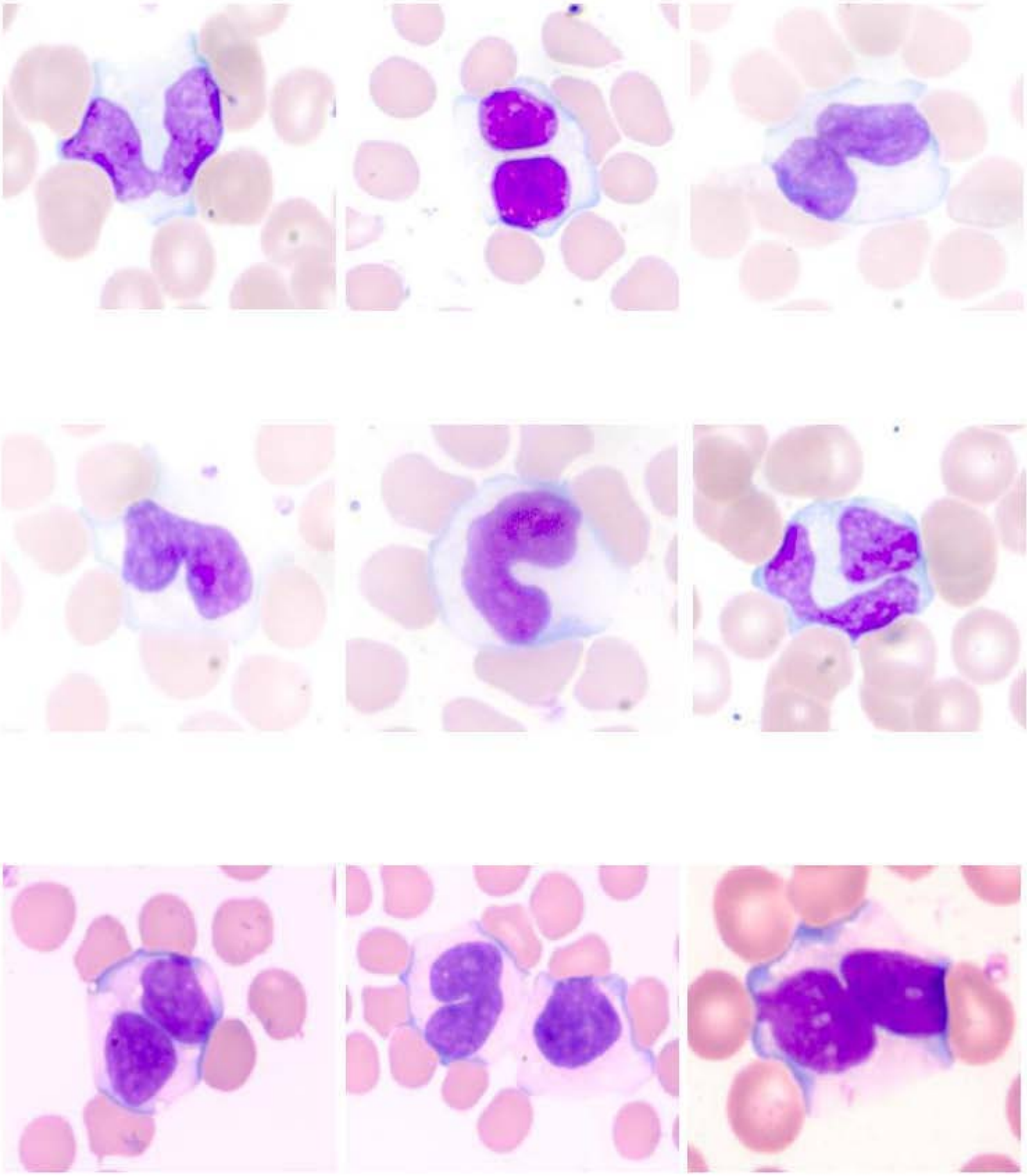
Annexe 8

Lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés avec anomalie iso3q



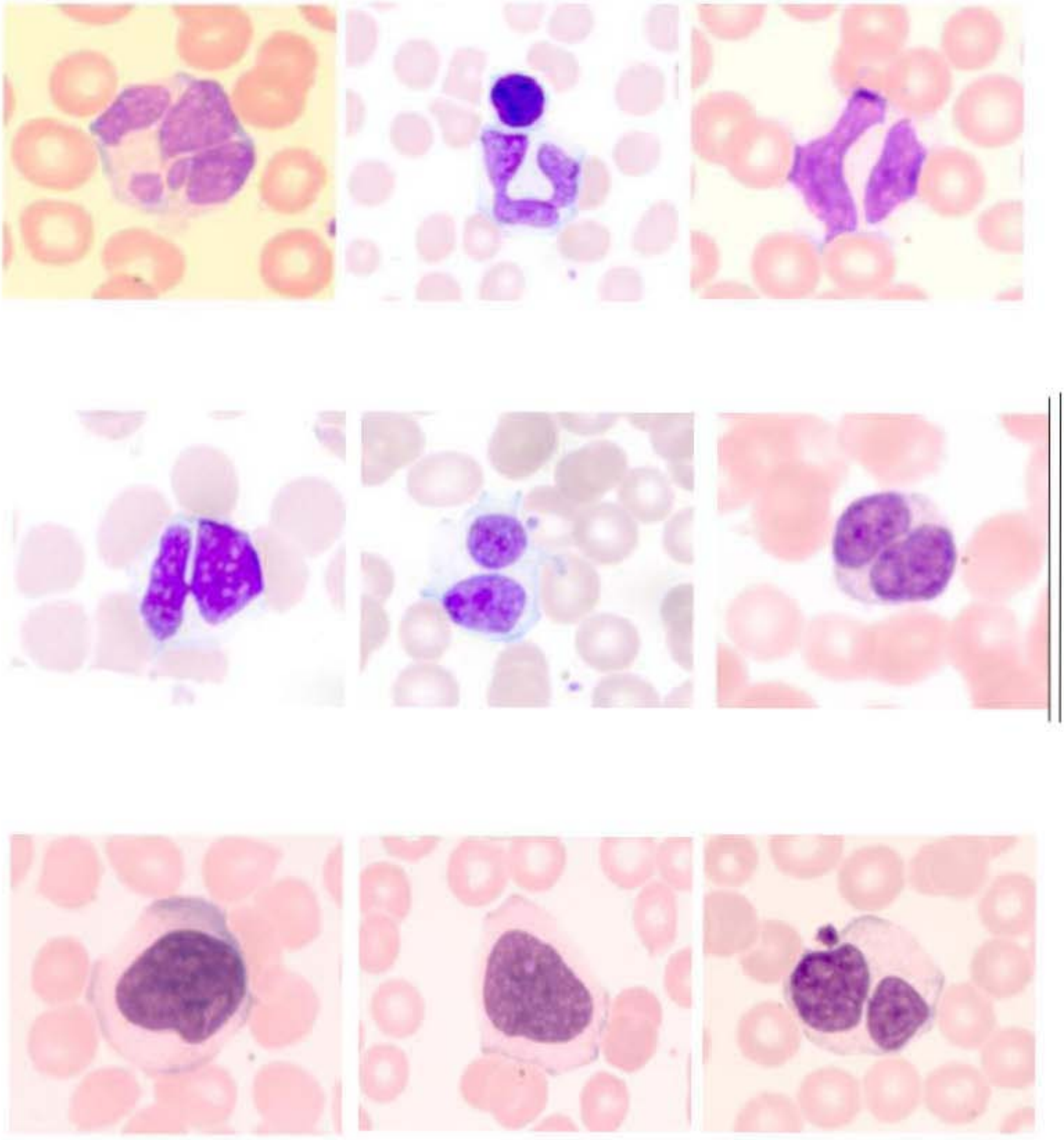
Annexe 8

Lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés avec anomalie iso3q



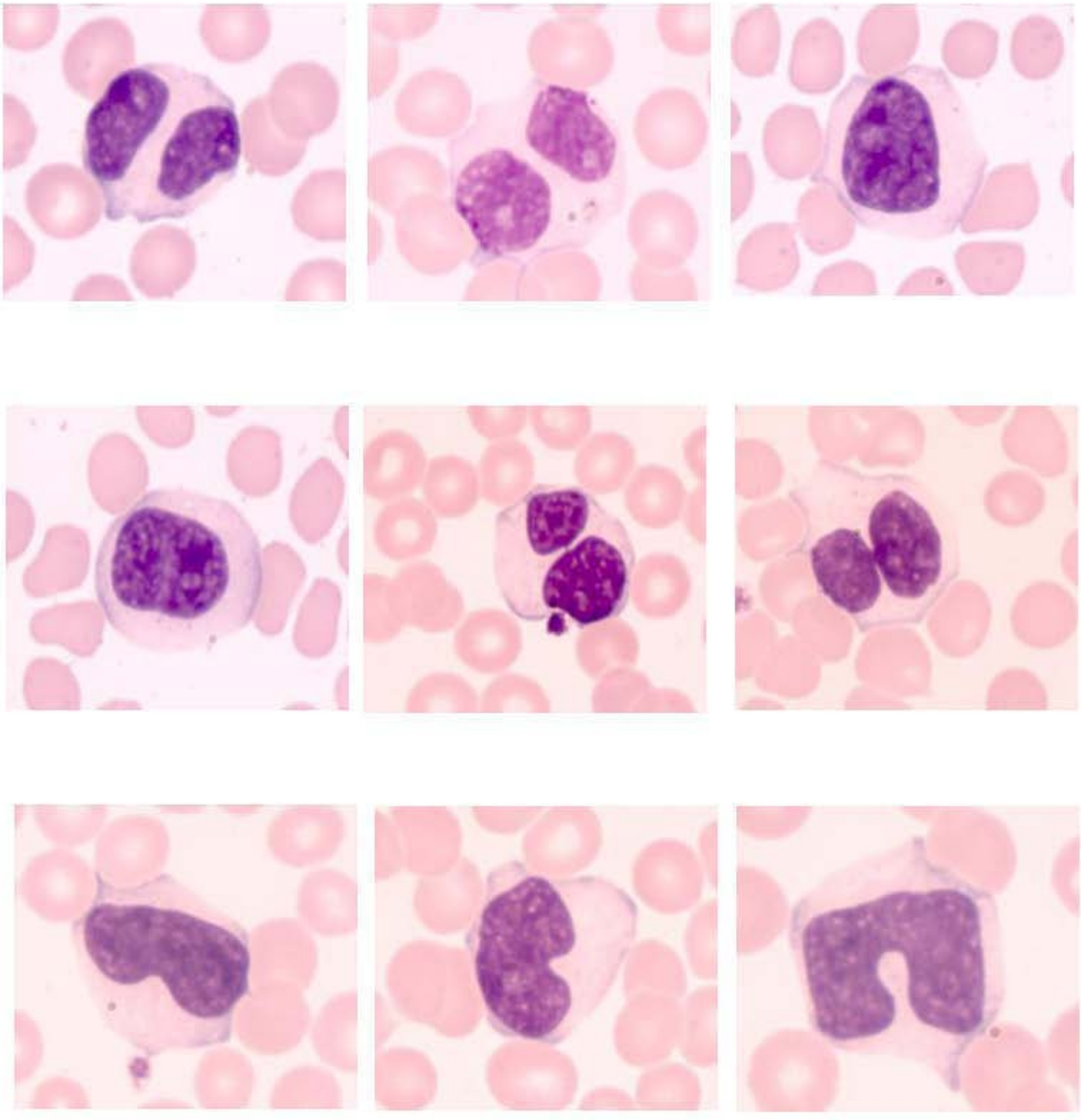
Annexe 8

Lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés sans anomalie iso3q



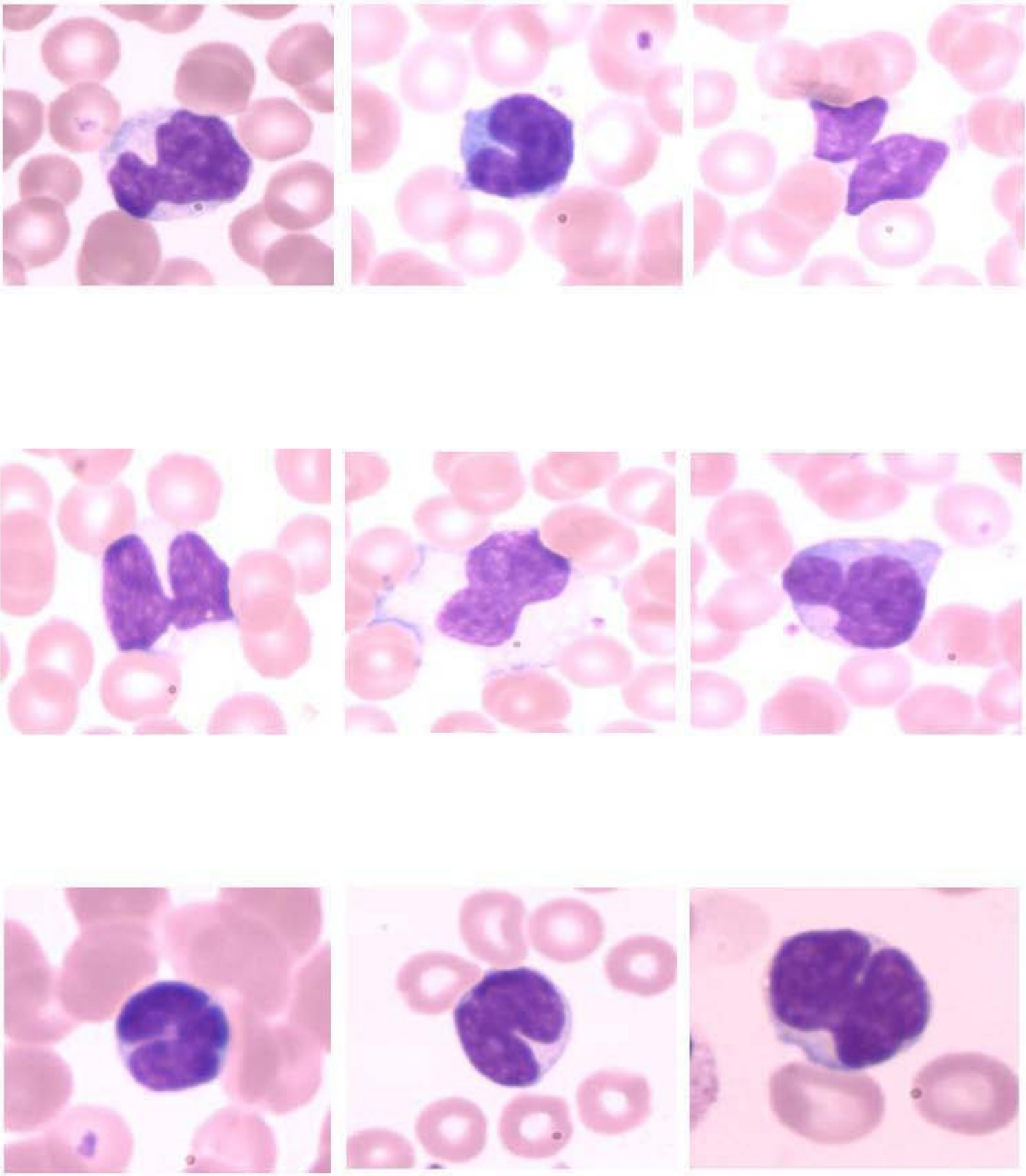
Annexe 8

Lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés sans anomalie iso3q



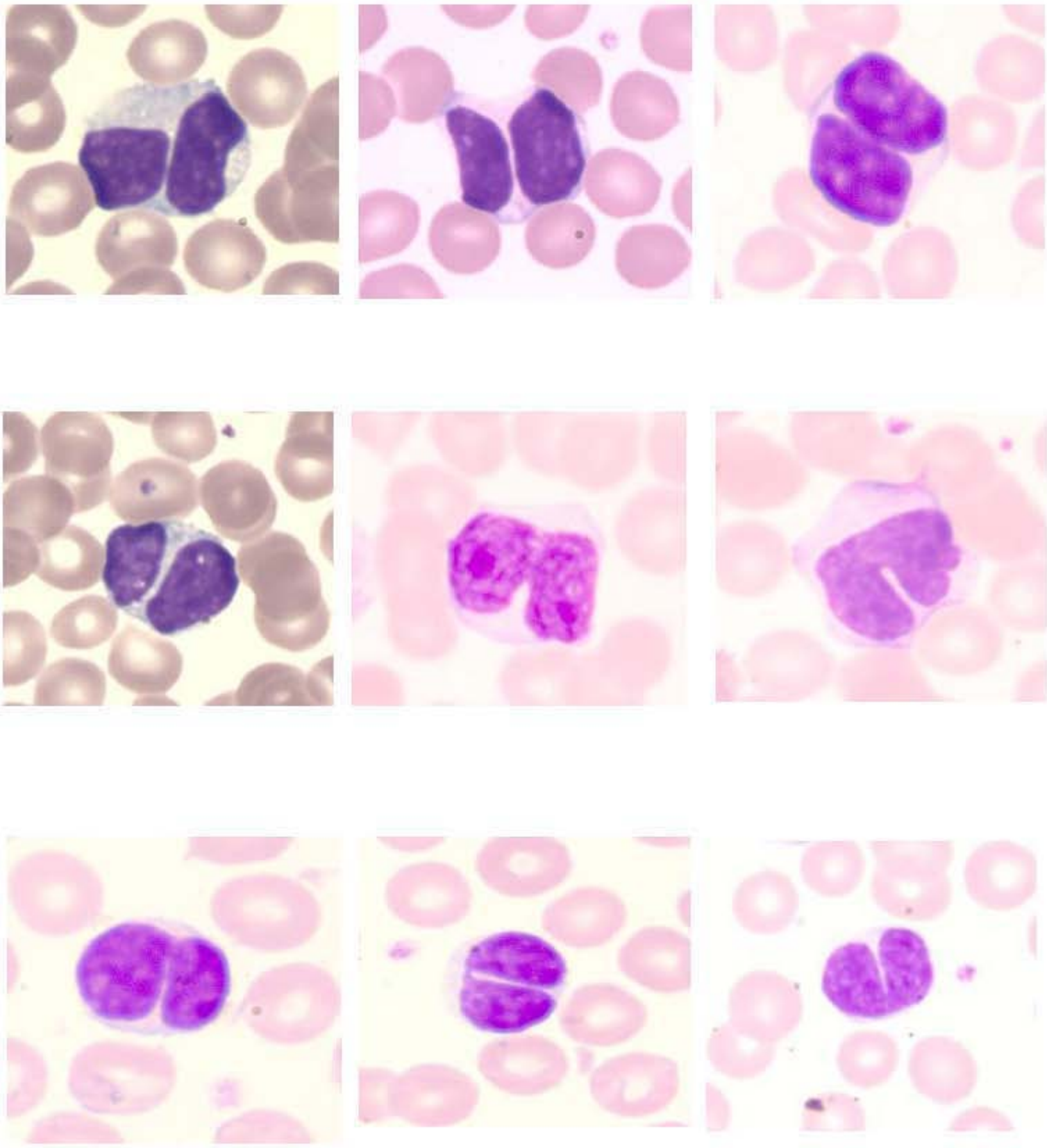
Annexe 8

Lymphocytes binucléés observés dans les cas de leucémie lymphoïde chronique



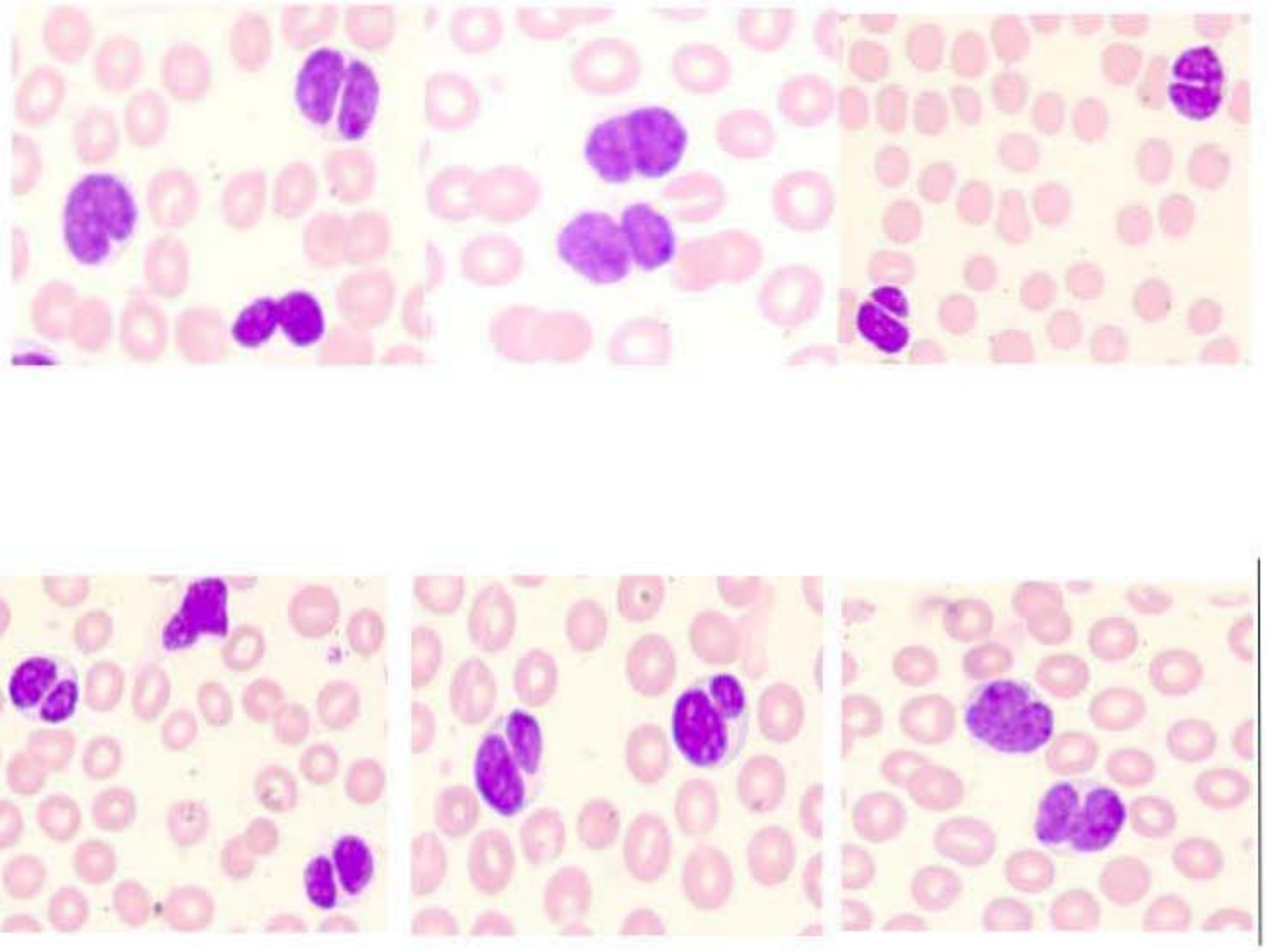
Annexe 8

Lymphocytes binucléés observés dans les cas de leucémie lymphoïde chronique



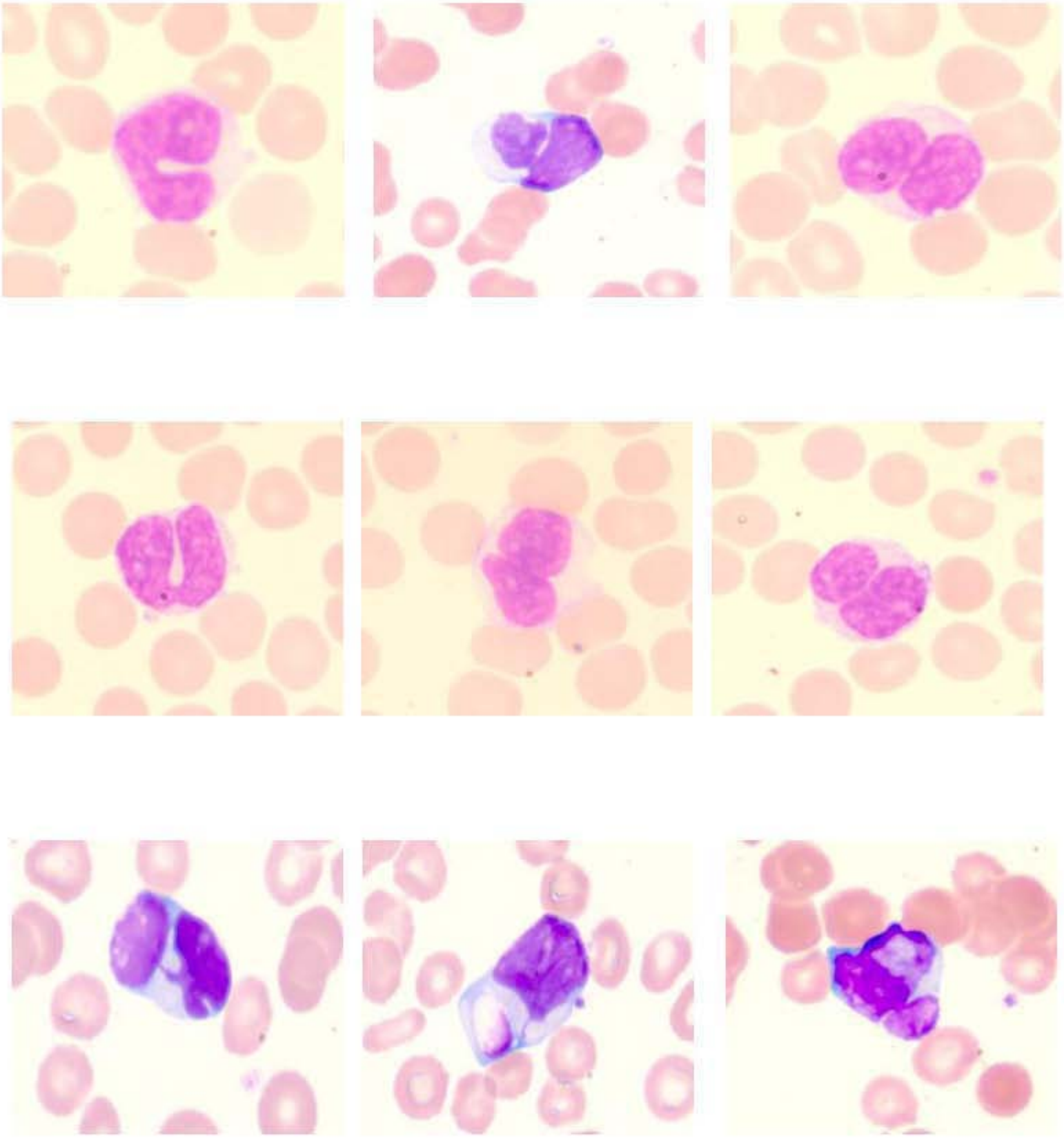
Annexe 8

Lymphocytes binucléés observés dans les cas de leucémie lymphoïde chronique



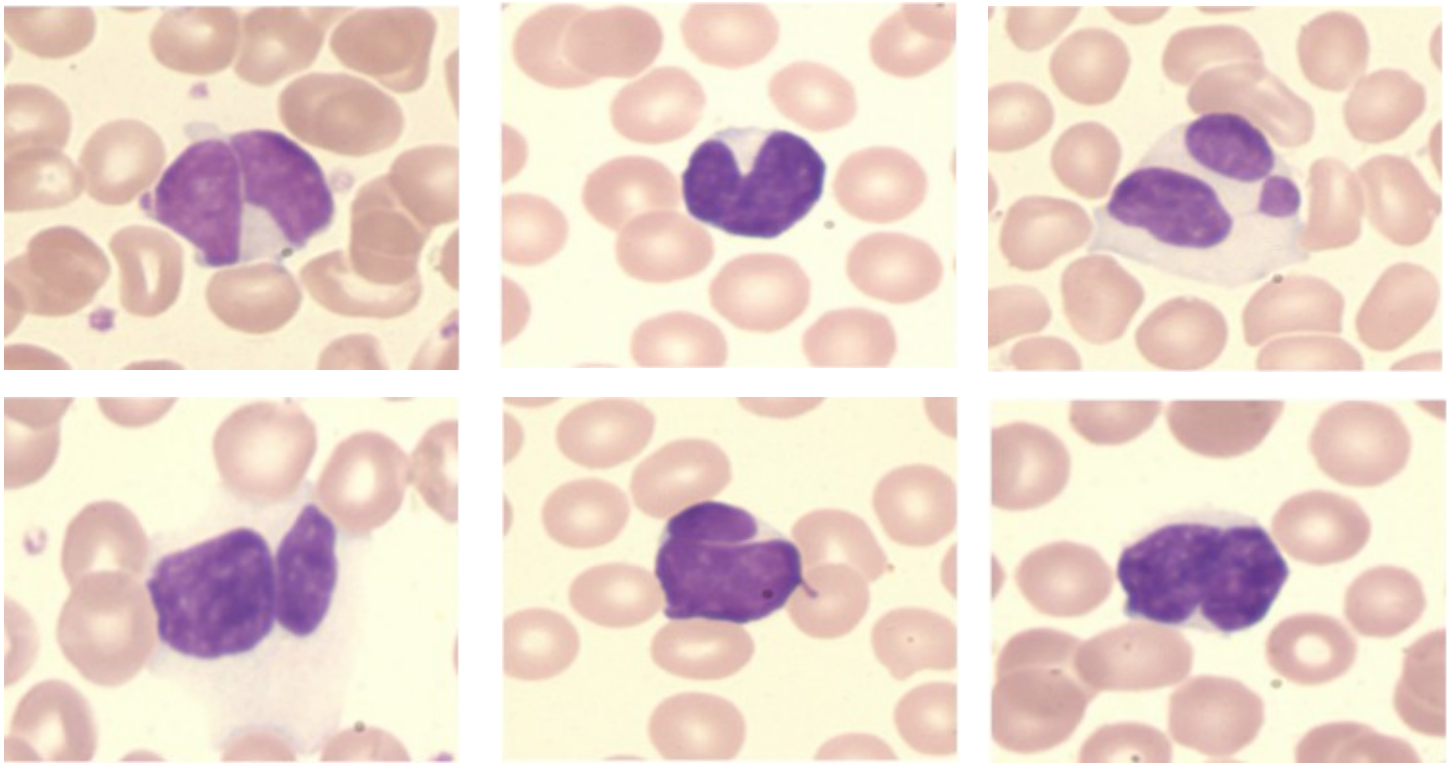
Annexe 8

Lymphocytes binucléés observés dans les cas de lymphome de la zone marginale

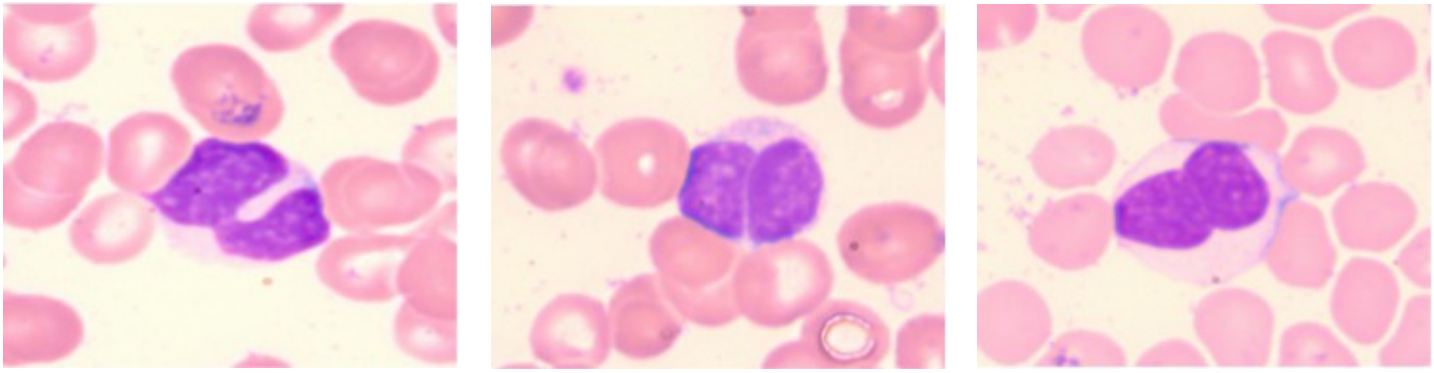


Annexe 8

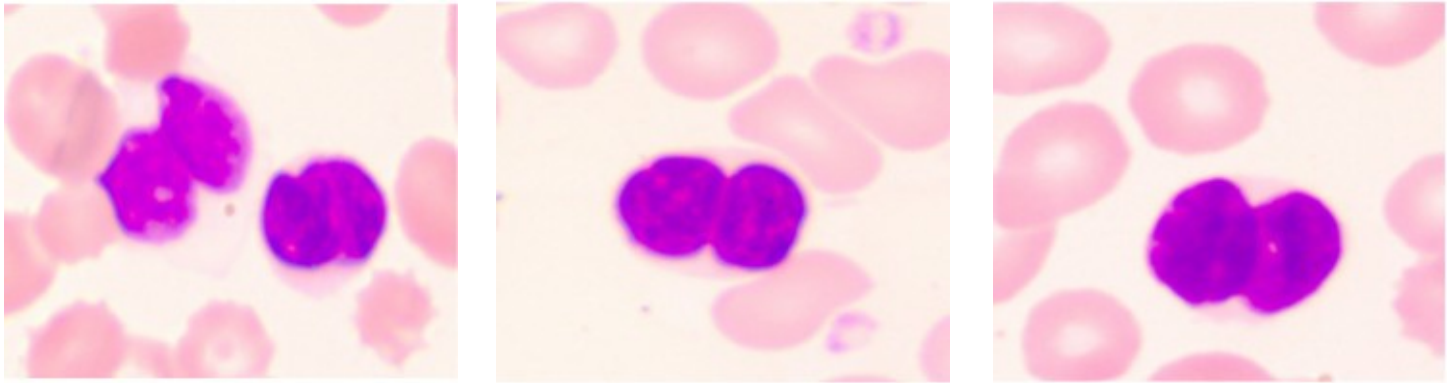
Lymphocytes bicnucléés observés dans le cas de lymphome folliculaire



Lymphocytes binucléés observés dans le cas de lymphome du manteau

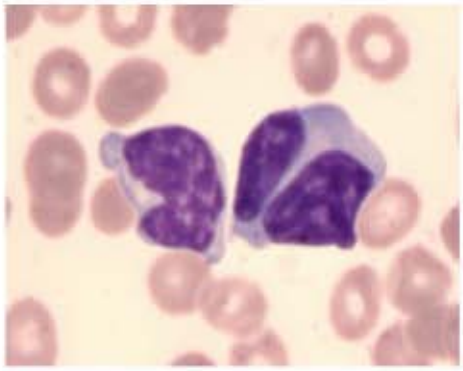
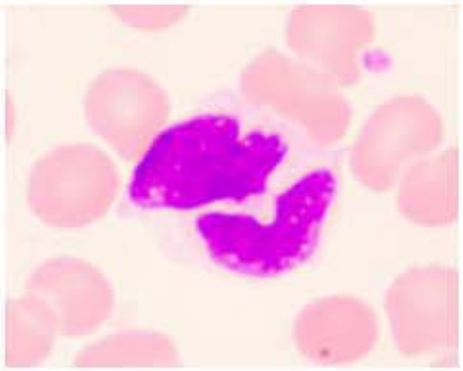
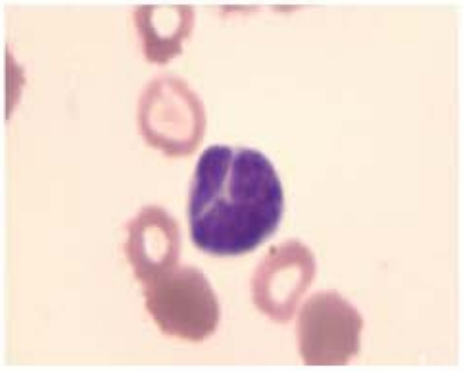
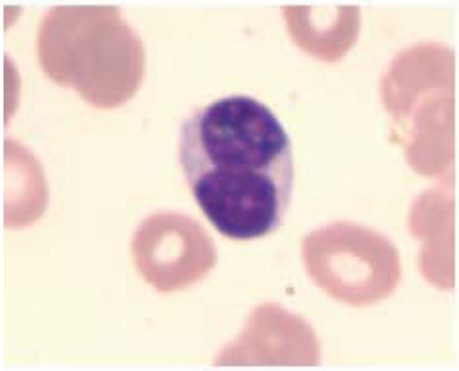
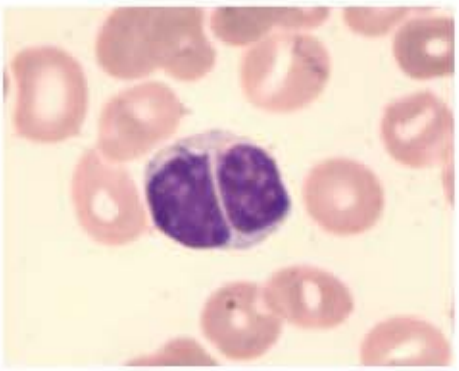
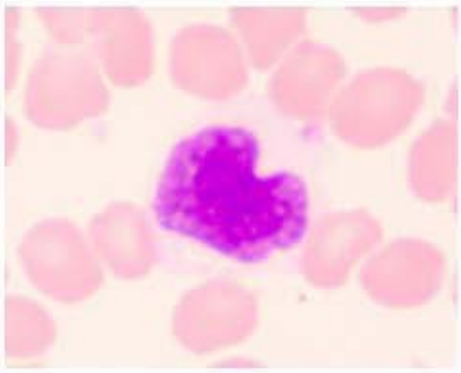
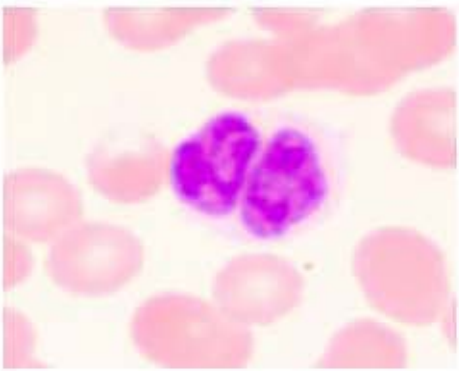
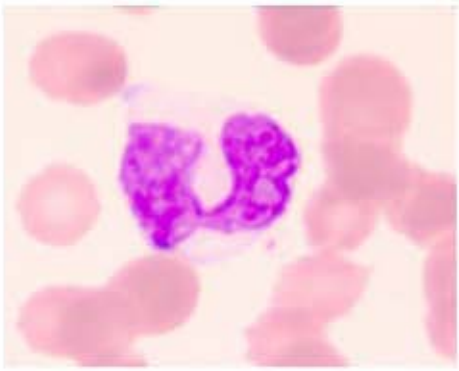
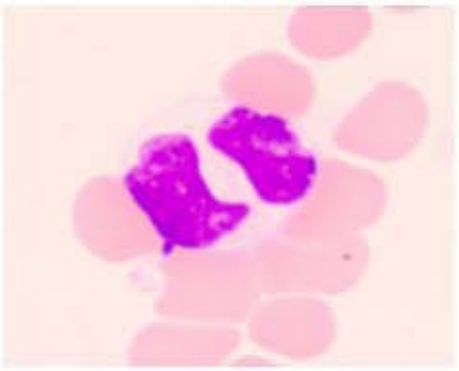


Lymphocytes binucléés observés dans le cas de lymphome T



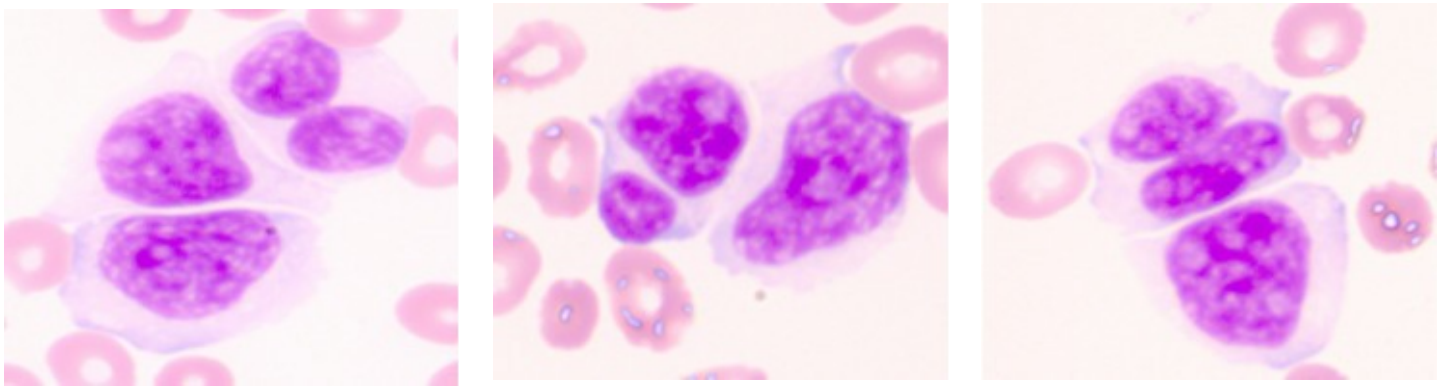
Annexe 8

Lymphocytes binucléés observés dans les cas de maladies de Waldenström

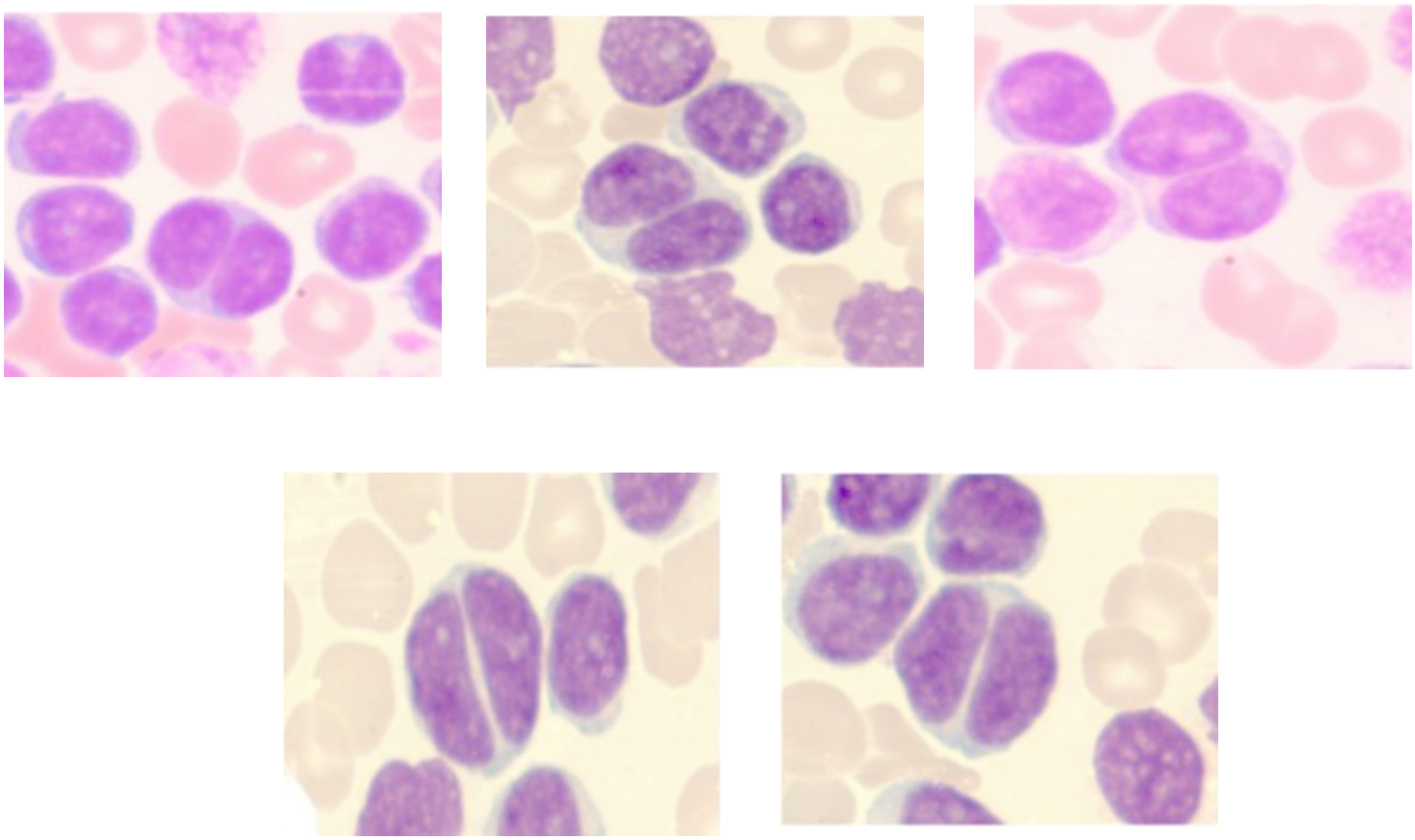










Annexe 8

Lymphocytes binucléés observés dans le cas de leucémie à prolymphocytes B

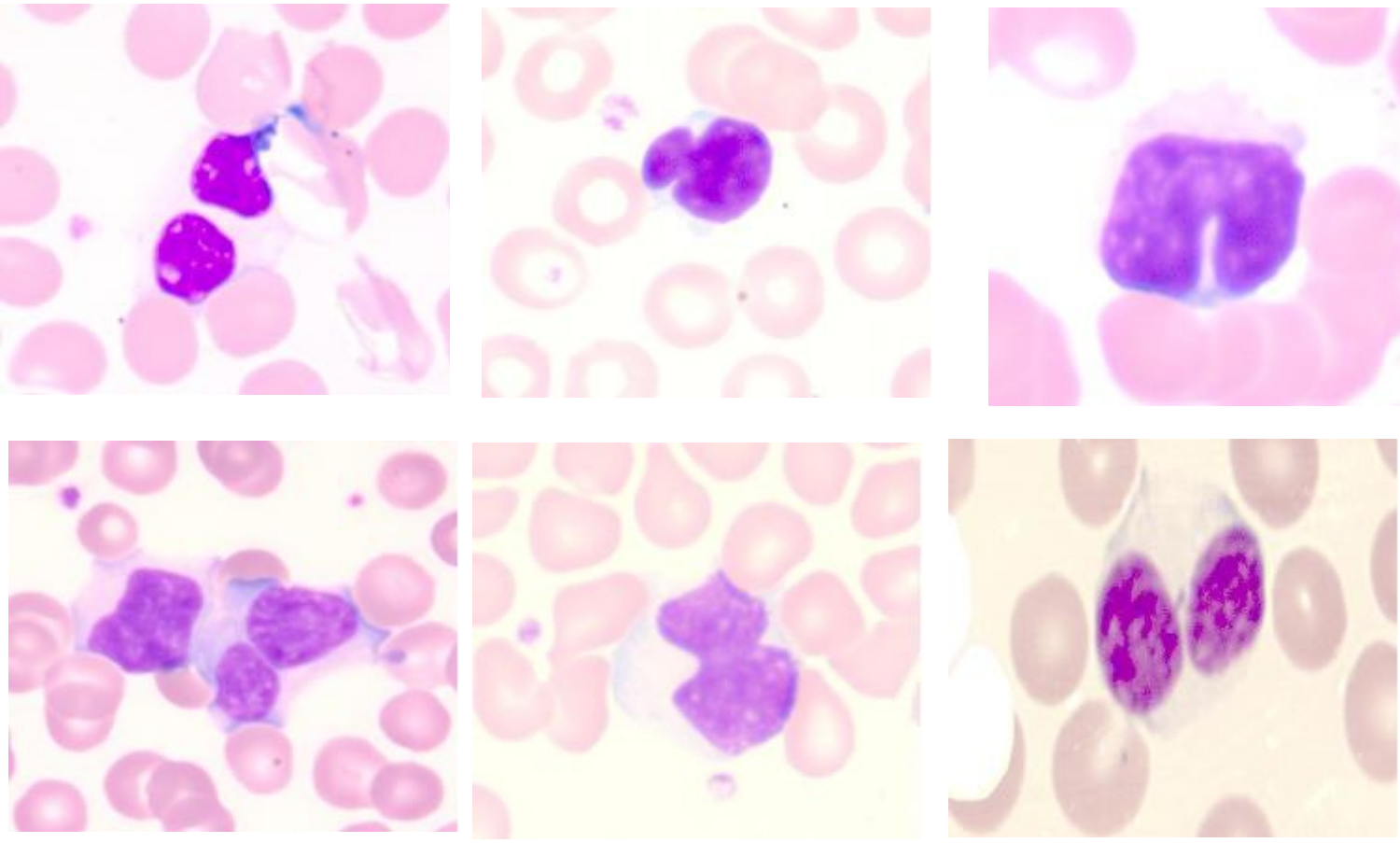


Lymphocytes binucléés observés dans le cas de leucémie à prolymphocytes T

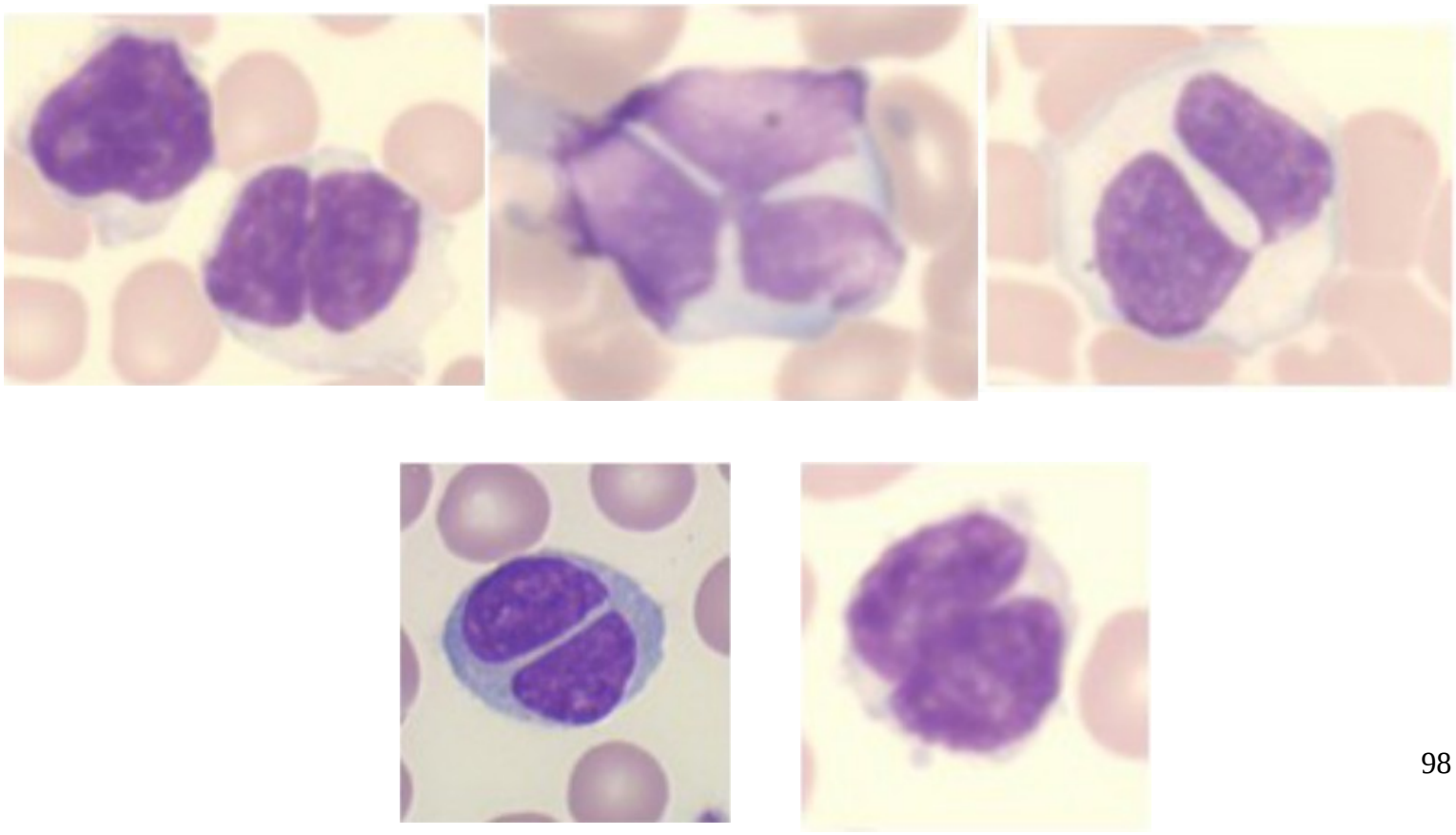


Annexe 8

Lymphocytes binucléés observés dans les cas de syndromes réactionnels



Lymphocytes binucléés observés dans les cas de sclérose en plaque traités par natalizumab



	Cellule		noyau				cytoplasme	
LPLB références	taille moyenne	contour régulier	forme lobée	lobes assymétriques	réniforme ou monocytoïd	nucléolé	surface moyenne	basophilie moyenne
Gordon et al, 1982	+	+	+	-		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		ND	+	+
carstairs et al, 1985	+	+	+	+		ND	+	+
Lawlor et al, 1991	-	+	+	+		+	+	+
Troussard et al, 1994	+	+	+	+		+	+	+
Agrawal et al, 1994	+	+	+	+		+	+	+
	+	+			+	+	+	+
	+	-			+	+	+	+
	+	+			+	+	+	+
	-	+			+	+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	-	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
Troussard et al, 1995	+	+	+	+		+	+	+
Rodriguez et al, 1996	+	+	+	+		ND	-	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	-	+	+		-	+	+
	+	-	+	+		-	+	+
	+	-			+	+	+	+
Troussard et al, 1997b	+	+			+	+	+	+
Delage et al, 1997	+	+	+	+		ND	+	ND
	+	+			+	+	+	-
	+	-			+	+	+	-
	+	+	+	-		+	+	-
Troussard et al, 1997a	+	-			+	+	+	-
	+	-			+	+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+			+	+	+	+
	-	+			+	+	+	+
	+	+			+	+	+	+
	+	+			+	+	+	+
	+	+			+	+	+	+
	+	+			+	+	+	+
	+	-	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
Callet-Bauchu et al, 199	+	+			+	+	+	+
	+	-	+	+		ND	+	ND
Carr et al, 1997	+	+	+	+		ND	+	ND
	+	+			+	+	+	+
Granados et al, 1998	+	+	+	+		+	+	+
Roy et al, 1998	+	+	+	+		-	+	+
Théodose et al, 1998	+	+	+	+		+	+	ND
Woessner et al, 1999	+	+	+	-		+	+	+
	+	+	+	-		+	+	-
	+	+	+	+		+	+	-
	-	+			+	-	-	-
Mossafa et al, 1999	+	+			+	-	+	+
Tonelli et al, 2000	+	+	+	-		+	+	+
	-	+	+	-		-	-	-
Reimer et al, 2000	-	+	+	-		-	-	-
Vignes et al, 2000	+	+	+	+		ND	+	ND
	-	+	+	-		ND	-	ND
	-	+	+	-		ND	-	ND
	+	+	+	-		ND	+	ND
Gil-Fernandez et al, 200	+	+	+	+		ND	+	ND
Himmelmann et al, 2001	+	+	+	+		ND	+	ND

Tableau 8. Caractéristiques des lymphocytes binucléés trouvés dans la littérature.

ND = non déterminé

	Cellule		noyau				cytoplasme	
LPLB références	taille moyenne	contour régulier	forme lobée	lobes assymétriques	réniforme ou monocytoïd	nucléolé	surface moyenne	basophilie moyenne
	+	+	+	-		+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+
	+	+			+	+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+
	+	+			+	+	+	+
Troussard et al, 2002	+	+			+	+	+	+
	-	+			+	-	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	-	+	+	+		-	-	+
Vincenot et al, 2003	+	+	+	-		-	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
Roussel et al, 2004	+	+	+	-		-	+	+
	-	+	+	+		ND	-	+
de Haan et al, 2006	-	+	+	-		ND	-	+
Troussard et al, 2007	+	+	3 lobes	+		+	+	+
Chapuy et al, 2007	+	+	+	+		+	-	+
	-	+	+	+		-	-	+
	+	+			+	-	+	+
Schmidt-Hieber et al, 2008	+	+			+	-	+	+
	+	+	+	+		-	+	+
Lesesve et al, 2008a	+	+			+	+	+	+
	-	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+			+	+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+			+	+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+			+	+	+	+
Troussard et al, 2008	+	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
Lesesve et al, 2011c	+	+			+	+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
	-	+	+	+		+	-	-
Troussard et al, 2011	+	+	+	+		-	+	+
Xochelli et al, 2012	-	+	+	+		+	+	+
	+	+	+	+		+	+	+
Chevalier et al, 2013	+	+			+	+	+	+

Tableau 8. Caractéristiques des lymphocytes binucléés trouvés dans la littérature.

ND = non déterminé

FACULTE DE PHARMACIE **UNIVERSITE DE LORRAINE**

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : Vendredi 12 avril 2013

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présenté par : Anne-Lise GRESSOT

Sujet :

Caractéristiques morphologiques des lymphocytes binucléés dans la lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés, les syndromes lymphoprolifératifs et certains syndromes réactionnels.

Jury :

Président : Pr FAIVRE Béatrice
Directeur : Dr LESESVE Jean-François
Juges :
Pr PLENAT François
Pr TROUSSARD Xavier
Dr CORNET Edouard

Vu,

Nancy, le 6 mars 2013

Le Président du Jury — Directeur de Thèse

Pr FAIVRE — Dr LESESVE

Vu et approuvé,

Nancy, le 08 mars 2013

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

UNIVERSITE DE LORRAINE FACULTE DE PHARMACIE

Francine PAULUS

Vu,

Nancy, le 14 MARS 2013

Le Président de l'Université de Lorraine,

Université de Lorraine

Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement :

N° d'identification :

TITRE :

Caractéristiques morphologiques des lymphocytes binucléés dans la lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés, les syndromes lymphoprolifératifs et certains syndromes réactionnels.

Thèse soutenue le vendredi 12 avril 2013

Par Anne-Lise GRESSOT

RESUME :

Les lymphocytes binucléés (LB) sont considérés comme des cellules caractéristiques d'une entité, la lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés (LPLB). Or, des observations isolées montrent la présence de ces cellules dans d'autres circonstances, bénignes (pathologies réactionnelles, en particulier la sclérose en plaque) ou malignes (syndromes lymphoprolifératifs (SLP)). Nous avons donc voulu analyser les caractéristiques morphologiques de ces LB rencontrés au cours des LPLB, en particulier pour affirmer le diagnostic. Nous avons ensuite évalué la spécificité de ces LB observés au cours des LPLB, SLP et pathologies réactionnelles. En outre, nous avons regardé l'ensemble de la population lymphoïde afin de déterminer d'éventuelles associations de types cellulaires. Notre étude indique que certaines caractéristiques des LB sont retrouvées dans les différentes pathologies (taille moyenne, noyau bilobé asymétrique, cytoplasme de surface moyenne et basophile), que d'autres sont plus spécifiques des LPLB (nucléoles, vacuoles), et qu'il existe une certaine hétérogénéité cellulaire au sein même des LPLB. Finalement, le pourcentage plus élevé de LB et la présence d'autres cellules lymphoïdes associées (lymphocytes monocytoïdes et hyperbasophiles) à ces LB peuvent constituer des arguments du diagnostic en faveur d'une LPLB.

MOTS CLES :

Morphologie – Lymphocytose polyclonale à lymphocytes binucléés – syndromes lymphoprolifératifs – syndromes réactionnels – lymphocytes binucléés

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
M. LESESVE Jean-François **Praticien hospitalier**	**Laboratoire d'hématologie biologique** **CHU Nancy Brabois**	**Expérimentale** ☐ **Bibliographique** ☒ **Thème** **5**

Thèmes **1 – Sciences fondamentales** **2 – Hygiène/Environnement**
3 – Médicament **4 – Alimentation – Nutrition**
5 - Biologie **6 – Pratique professionnelle**