



HAL
open science

Généralités sur les lymphomes non hodgkiniens : thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie

Guillaume Roche

► **To cite this version:**

Guillaume Roche. Généralités sur les lymphomes non hodgkiniens : thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie. Sciences pharmaceutiques. 2000. dumas-01260834

HAL Id: dumas-01260834

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01260834>

Submitted on 22 Jan 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

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 n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

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 au SICD1 de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.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/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



2^e exemplaire

**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

ANNEE 2000

N° D'ORDRE : **7042**

**Généralités sur les lymphomes non hodgkiniens
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie**

THESE

**PRESENTÉE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN PHARMACIE
DIPLOME D'ETAT**

ROCHE Guillaume

Né le 15 Septembre 1970 à Brétigny sur Orges (91)

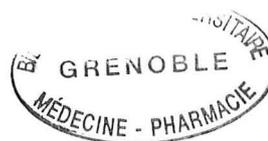
Thèse soutenue publiquement le 6 Décembre 2000 à 17 heures

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

MONSIEUR LE PROFESSEUR DROUET E. PRESIDENT DU JURY

MADAME RIONDEL J MAITRE DE CONFERENCES, UFR PHARMACIE DE GRENOBLE

MONSIEUR ALARCON JL PHARMACIEN D'OFFICINE



**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

ANNEE 2000

N° D'ORDRE :

**Généralités sur les lymphomes non hodgkiniens
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie**

THESE

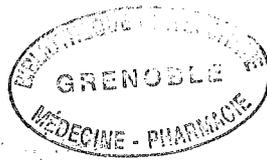
PRESENTÉE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN PHARMACIE

DIPLOME D'ETAT

ROCHE Guillaume

Né le 15 Septembre 1970 à Brétigny sur Orges (91)

Thèse soutenue publiquement le 6 Décembre 2000 à 17 heures



DEVANT LE JURY COMPOSE DE

MONSIEUR LE PROFESSEUR DROUET E. PRESIDENT DU JURY

MADAME RIONDEL J MAITRE DE CONFERENCES, UFR PHARMACIE DE GRENOBLE

MONSIEUR ALARCON JL PHARMACIEN D'OFFICINE

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE
Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté

M. le Professeur P. DEMENGE

Vice Doyen

M. le Professeur J. CALOP

PROFESSEURS DE PHARMACIE

ALARY	Josette	Chimie Analytique
BAKRI	Abdelaziz	Pharmacie Galénique
BENOIT-GUYOD	Jean-Louis	Chimie Toxicologie et Eco- toxicologie
CALOP	Jean	Pharmacie Clinique et Bio- technique
CUSSAC	Max	Chimie Thérapeutique
DECOUT	Jean-Luc	Chimie Générale
DEMENGE	Pierre	Physiologie/Pharmacologie
DROUET	Emmanuel	Microbiologie-Immunologie
FAVIER	Alain	Biochimie
GOULON	Chantal	Physique-Pharmacie
GRILLOT	Renée	Parasitologie
MARIOTTE	Anne-Marie	Pharmacognosie
RIBUOT	Christophe	Physiologie-Pharmacologie
ROUSSEL	Anne-Marie	Biochimie
SEIGLE-MURANDI	Françoise	Botanique et Cryptogamie
STEIMAN	Régine	Biologie Cellulaire
WOUESSIDJEWÉ	Denis	Pharmacie Galénique

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE
Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté

M. le Professeur P. DEMENGE

Vice Doyen

M. le Professeur J. CALOP

MAITRES DE CONFÉRENCE DE PHARMACIE

ALDEBERT	Delphine	Parasitologie
ALLENET	Benoit	Pharmacie Clinique
BARTOLI	Marie-Hélène	Pharmacie Clinique et Biotech.
BOUMENDJEL	Ahcène	Pharmacognosie
BURMEISTER	Wilheim	Physique
CARON	Cécile	Biologie Moléculaire
CHARLON	Claude	Chimie Pharmacie
DELETRAZ	Martine	Droit Economie pharmaceutique
DIJOUX-FRANCA	M.-Geneviève	Pharmacognosie
DURMORT-MEUNIER	Claire	Virologie moléculaire structur
ESNAULT	Danielle	Chimie Analytique
FAURE	Patrice	Biochimie C
FAURE-JOYEUX	Marie	Physiologie-Pharmacologie.
FOUCAUD-GAMEN	Jacqueline	Bactériologie-Virologie.
GEZE	Annabelle	Pharmacotechnie Galénique
GILLY	Catherine	Chimie Thérapeutique
GUIRAUD	Pascale	Biologie cellulaire
GROSSET	Catherine	Chimie analytique
HININGER-FAVIER	Isabelle	LBSO-Biochimie C
KRIVOBOK	Serge	Botanique-Cryptogamie
MORAND	Jean-Marc	Chimie thérapeutique
NICOLLE	Edwige	Chimie organique
PERA	Marie-Hélène	Chimie organique
PEYRIN	Eric	Chimie Analytique Alimentaire
PINEL	Claudine	Parasitologie
RAVEL	Anne	Chimie Analytique
RIBUOT	Diane	Physio. Pharmaco
RICHARD	Jean-Michel	Chimie Toxico-Ecotoxicologie
RIONDEL	Jacqueline	Physiologie Pharmacologie
TAILLANDIER	Georges	Chimie organique
VILLEMAM	Danièle	Physique Pharmacie
VILLET	Annick	Chimie analytique

A NOTRE PRESIDENT DE THESE **MONSIEUR LE PROFESSEUR EMMANUEL DROUET**
PROFESSEUR DES UNIVERSITES
LABORATOIRE DE VIROLOGIE MOLECULAIRE ET STRUCTURALE

NOUS VOUS REMERCIONS D'AVOIR ACCEPTE LA PRESIDENCE DE CE JURY DE THESE.
NOUS VOUS PRIONS DE TROUVER DANS CET OUVRAGE LE TEMOIGNAGE DE NOTRE
RECONNAISSANCE ET DE NOTRE CONSIDERATION.

A NOTRE JURY DE THESE MADAME JACQUELINE RIONDEL
MAITRE DE CONFERENCE DES UNIVERSITES
LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE PHARMACOLOGIE

NOUS VOUS REMERCIONS D'AVOIR ACCEPTE DE SIEGER A NOTRE JURY DE THESE.
VEUILLEZ RECEVOIR ICI LE TEMOIGNAGE DE NOTRE SINCERE RECONNAISSANCE.

A NOTRE JURY DE THESE **MONSIEUR LE DOCTEUR JEAN LOUIS ALARCON**
DOCTEUR EN PHARMACIE.

NOUS VOUS REMERCIONS D'AVOIR ACCEPTE DE JUGER NOTRE TRAVAIL.
NOUS VOUS PRIONS DE BIEN VOULOIR TROUVER DANS CE TRAVAIL LE
TEMOIGNAGE DE NOTRE AMITIE.

Sommaire.

Introduction.

Chapitre 1. Cellules du système immunitaire : Nomenclature, physiologie, phénotype et différenciation des cellules lymphoïdes.

- I-1- Introduction.
- I-2- Hématopoïèse.
- I-3- Lignées lymphocytaires.
 - I-31- Morphologie.
 - I-32- Différenciation et expression des marqueurs lymphocytaires T.
 - I-33- Différenciation et expression des marqueurs lymphocytaires B.
- I-4- Expression des Ac, sIg et TcR à la surface des lymphocytes.
 - I-41- Généralités.
 - I-42- Réarrangement des gènes des immunoglobulines et du TcR.
 - I-4-2a- Réarrangement des gènes des Ig au cours de la différenciation B.
 - I-4-2b- Réarrangement des gènes du TcR au cours de la différenciation T.
 - I-43- Similitudes et différences entre les molécules d'Ig et de TcR.
 - I-44- Reconnaissance de l'Ag restreinte au CMH.

Chapitre 2. Organes et tissus lymphoïdes, Circulation des lymphocytes.

- II-1- Introduction, généralités.
- II-2- Le thymus.
- II-3- La moelle osseuse.
- II-4- Les ganglions lymphatiques.
 - II-4a- Cortex superficiel.
 - II-4b- Cortex profond.
 - II-4c- Médullaire.
- II-5- La rate.
- II-6- Le tissu lymphoïde associé aux muqueuses.
- II-7- Circulation des lymphocytes.
- II-8- Innervation des tissus lymphoïdes.

Chapitre 3. Classification histopathologique, immunologique, cytogénétique et moléculaire des lymphomes malins non hodgkiniens.

III-1- Introduction, généralités.

III-2- REAL classification.

III-2-1- Bases immunologiques de la REAL classification.

III-2-2- Bases moléculaires de la REAL classification.

III-2-2a- Techniques.

III-2-2b- Données générales sur les réarrangements des gènes codant les récepteurs aux antigènes.

III-3- Lymphomes B.

III-3-1- Lymphomes Lymphoblastiques B développés à partir des précurseurs B.

III-3-2- Lymphomes développés à partir des lymphocytes B périphériques.

III-3-21- Lymphome B à grandes cellules. (REAL)

III-3-22- Lymphome médiastinal à grandes cellules B.

III-3-23- Lymphome de Burkitt.

III-3-24- Leucémie à tricholeucocytes.

III-3-25- Plasmocytome PCT- Myélome multiple.

III-3-26- Lymphome folliculaire.

III-3-27- Lymphomes lymphoplasmocytaires, immunocytomes.

III-3-28- Lymphomes des cellules du manteau.

III-3-29- Lymphome de la zone marginale de type MALT ou mlatome.

III-3-210- Lymphome splénique de la zone marginale.

III-3-211- Leucémie lymphoïde chronique B/Leucémie prolymphocytaire.

III-4- Lymphomes T et des cellules NK « natural killer ».

III-4-1- Lymphomes, leucémies lymphoblastiques T.

III-4-2- Lymphomes développés à partir de cellules T et de cellules NK matures.

III-4-21- Leucémie lymphoïde chronique/ Leucémie prolymphocytaire.

III-4-22- Lymphome/ Leucémie à grands lymphocytes granuleux. (LGL)

III-4-23- Lymphomes/ Leucémie de l'adulte associées au virus HTLV VI.

III-4-24- Mycosis fongoïde/Syndrome de Sézary.

III-4-25- Lymphomes T périphériques CD 30-.

III-4-26- Lymphomes T périphériques CD 30+/ Lymphome anaplasique.

III-4-27- Lymphome T intestinal.

III-4-28- Lymphome T de type lymphadénopathie angioimmunoblastique

III-4-29- Lymphome NK/T nasal et de type nasal.

III-4-210- Lymphomes T extrêmement rares.

Lymphome T simulant une panniculite sous cutanée.

Lymphome γ/δ hépatosplénique.

Chapitre 4. Bilans d'extention d'un LNH et thérapeutiques classiques.

- IV-1- Bilan d'extension d'un LNH.
 - IV-1-1- Lymphomes non hodgkiniens agressifs.
 - IV-1-2- Lymphomes non hodgkiniens indolents.
 - IV-1-3- Bilan d'extension et stades des LNH chez l'enfant.
- IV-2-Thérapeutique des LNH.
 - IV-2-1- Traitement, pricipes généraux.
 - IV-2-2- Chimiothérapie. Les agents cytostatiques.
 - IV-2-2a- Généralités.
 - IV-2-2b- Règles de prescription et de surveillance.
 - IV-2-2c- Mécanismes de chimiorésistance.
 - IV-2-2d- Toxicités générales des agents Cytostatiques et complications des chimiothérapies.
 - IV-2-2e- Principaux protocoles et choix d'une modalité thérapeutique.
 - IV-2-2e1- LNH indolents, de faible malignité histologique.
 - IV-2-2e2- LNH agressifs, de haute malignité.

Chapitre 5. Perspectives d'immunothérapie.

- V-1- Introduction
- V-2- Les anticorps monoclonaux.
 - V-2-1- Mécanismes d'action des anticorps monoclonaux.
 - V-2-2- Caractéristiques et sélection des anticorps.
 - V-2-3- Nature et choix des antigènes cibles.
 - V-2-31- Les idiotypes.
 - V-2-32- Autres antigènes.
 - V-2-4- Traitement par Ac Mo anti-CD52 CAMPATH®1H.
 - V-2-5- Traitement par Ac Mo anti-CD20 Rituxan®
- V-3- Autres alternatives de traitement par les Ac Mo.
 - V-3-1- Radio-immunothérapie.
 - V-3-1a- Principes généraux.
 - V-3-1b- Applications et résultats.
 - V-3-2- Immunotoxines.
- V-4- Immunothérapie active non spécifique.
 - V-4-1- Interferon α .
 - V-4-2- Interleukine 2.
 - V-4-3- Cyclosporine A.
- V-5- Immunothérapie cellulaire non spécifique.
 - V-5-1- Allogreffe de moelle dans le traitement des LNH.
 - V-5-2- Autogreffe de moelle dans le traitement des LNH.
 - V-5-3- Greffes de CSH allogéniques non myéloblastiques.
- V-6- Immunothérapie active spécifique.
 - V-6-1- Stratégies vaccinales.
 - V-6-2- Induction d'une réponse anti-tumorale efficace : Nature de l'antigène et de l'agent vaccinal.
 - V-6-3- La vaccination anti-idiotypique.
 - V-6-4- Les cellules dendritiques.
 - V-6-5- Immunothérapie spécifique par les exosomes

Conclusion.

Généralités sur les Lymphomes non Hodgkiniens (LNH)
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie
Liste des Figures.

- Figure 1.** Schéma simplifié de l'hématopoïèse.
Figure 2. Petit lymphocyte.
Figures 3 et 4. Grand lymphocyte.
Figure 5. Immunoblaste.
Figure 6. Différenciation intrathymique des lymphocytes T.
Figure 7. Représentation schématique de l'hématopoïèse des cellules B dans la moelle osseuse.
Figure 8. Antigènes de surface des cellules de la lignée B.
Figures 9, 10, 13 et 14. Follicule lymphoïde.
Figure 11. Plasmocytes typiques CD20- CD38+.
Figure 12. Lymphoplasmocyte.
Figure 15. Différentes représentations d'une molécule d'anticorps.
Figure 16. Structure des BcR et des TcR.
Figure 17. Moelle osseuse rouge chez l'adulte.
Figure 18. Structure du ganglion lymphatique.
Figure 19. Formation et structure des centres germinatifs.
Figure 20. Structure des plaques de Peyer.
Figure 21. Ultrastructure d'une cellule interdigitée des plaques de Peyer.
Figures 22 et 23. Examen morphologique au MO après biopsie (lymphome B diffus à grandes cellules).
Figure 24. Mise en évidence par PCR d'un réarrangement clonal des gènes codant la chaîne lourde des Ig dans sept cas de lymphomes B diffus à grandes cellules.
Figure 25. Examen morphologique au MO après biopsie (lymphome médiastinal à grandes cellules B).
Figure 26. Lymphome de Burkitt Africain.
Figures 27 et 28. Examen morphologique au MO après biopsie (lymphome de Burkitt).
Figure 29. Translocations observées au cours du lymphome de Burkitt.
Figure 30. Conséquences moléculaires de la translocation t(8 ;14).
Figure 31. Leucémie à tricholeucocytes, infiltration médullaire.
Figure 32. Tricholeucocytes résiduels sur une coupe de biopsie ostéomédullaire.
Figures 33, 34 et 35. Lymphome folliculaire.
Figures 36 et 37. Examen morphologique au MO après biopsie (lymphome des cellules du manteau).
Figures 38 et 39. Examen morphologique au MO après biopsie (lymphome de la zone marginale de type MALT).
Figure 40. Examen morphologique au MO après biopsie (leucémie lymphoïde chronique).
Figure 41. Examen morphologique au MO après biopsie (lymphome, leucémie lymphoblastique T).
Figure 42. Mycosis fungoïde au stade de plaques infiltrées.
Figure 43. Mycosis fungoïde au stade de tumeur.
Figure 44. Maladie de Sézary.
Figure 45. Infiltration lymphomateuse sous épidermique et abcès de Pautrier.
Figures 46 et 47. Aspect histologique d'un lymphome T périphérique sans spécification.
Figure 48. Aspect cytologique (lymphomes anaplasiques à grandes cellules).
Figure 49. Examen morphologique au MO après biopsie (lymphome anaplasique).
Figures 50 et 51. Examen morphologique au MO après biopsie (lymphome NK/T nasal et de type nasal).
Figure 52. Survie globale des malades du Groupe d'étude des lymphomes folliculaires selon la masse tumorale.
Figure 53. Principe général de production des anticorps monoclonaux.
Figure 54. Anticorps murin, chimérique et humanisé.
Figure 55. Survie sans maladie et taux de rechute après autogreffe en première rémission chez les patients atteints de lymphomes malins non hodgkiniens, en fonction de la technique utilisée pour purger la moelle des cellules tumorales résiduelles, par le mafosfamide.
Figure 56. Probabilité de survie sans maladie après autogreffe de moelle osseuse sur une série de 114 patients atteints de lymphome malin non hodgkinien de type B.
Figure 57. Stratégie vaccinale et suivi immunologique.
Figure 58. Protocole développé pour préparer les exosomes des cellules dendritiques.

Généralités sur les Lymphomes non Hodgkiniens (LNH)
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie
Liste des tableaux.

Tableau I : Lymphomes B : entités reconnues dans la REAL classification.

Tableau II : Lymphomes T : entités reconnues dans la REAL classification.

Tableau III : Marqueurs immunologiques et leur correspondance CD pouvant être utilisés pour l'étude des cellules lymphoïdes B et T, ainsi que leurs principales fonctions remarquables.

Tableau IV : Caractéristiques histologiques, immunologiques et moléculaires des principaux lymphomes B indolents individualisés selon la REAL classification.

Tableau V : Classification de l'extension des LNH dite d'Ann Arbor.

Tableau VI : Facteurs associés à l'obtention d'une réponse complète, la survie sans récurrence et la survie globale en analyse univariée.

Tableau VII : Valeur pronostique de l'Index International.

Tableau VIII : Valeur pronostique de l' IPI appliquée aux LNH indolents.

Tableau IX : Facteurs pronostiques des lymphomes folliculaires.

Tableau X : Classification de l'extension des lymphomes de l'enfant du « St Jude Children Research Hospital » (Murphy).

Tableau XI : Examens nécessaires à la réalisation du bilan d'extension.

Tableau XII : Les principaux cytotoxiques.

Tableau XIII : Cotation OMS des complications des chimiothérapies.

Tableau XIV : Myélotoxicité.

Tableau XV : Principaux protocoles de polychimiothérapie.

Tableau XVI : Antigènes des cellules B pouvant servir de cible à l'action d'anticorps monoclonaux.

Tableau XVII : Etude de phase II de l'anticorps chimérique anti CD52.

Tableau XVIII: Etudes de phase II de l'anticorps chimérique anti CD20 rituximab dans les lymphomes de faible grade.

Tableau XIX : Essais de radio-immunothérapie dans les lymphomes non hodgkiniens.

Tableau XX : Association chimiothérapie/ Interferon alpha dans les lymphomes de faible malignité.

Introduction.

Les lymphomes non hodgkiniens regroupent un ensemble hétérogène de syndromes lymphoprolifératifs issus des Lymphocytes T ou B dont l'incidence augmente de façon régulière dans tous les pays.

Avec les mélanomes, il s'agit du type de cancer dont l'augmentation de fréquence est la plus importante. Des études longitudinales ont montré une augmentation de l'incidence des lymphomes de l'ordre de 5 à 10% par an.^[21] Le risque relatif était de 12,4 cas pour 100000 habitants en 1987 aux Etats Unis, où les Lymphomes représentent maintenant le cinquième cancer le plus fréquent chez l'homme et le sixième chez la femme.

L'hétérogénéité de ces affections tient à leur présentation et leur évolution clinique plus ou moins agressives, leurs caractéristiques cytologiques et histologiques, et leur sensibilité variable aux traitements.

Les conséquences de cet hétérogénéité pèsent sur le choix thérapeutique et le pronostic de ces pathologies.

Mais l'essor des techniques immunohistochimiques, le développement des anticorps monoclonaux et de la biologie moléculaire ont transformé l'approche des tumeurs lymphoïdes.

La classification la plus récente, dénommée la Revised European-American classification for lymphoid neoplasm (REAL classification), identifie des entités sur des critères morphologiques et immunophénotypiques.^[33]

Si contrairement à la Working Formulation (WF), la classification de REAL ne distingue pas de groupes pronostiques, elle intègre l'ensemble des progrès conceptuels et techniques réalisés dans la connaissance des proliférations lymphoïdes.

Plusieurs questions concernant la stratégie thérapeutique chez les patients atteints de lymphomes restent en suspens.

Les traitements optimaux restent discutés, le rôle respectif des chimiothérapies et en particulier du CHOP (polychimiothérapie : cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine, predniso(lo)ne), longtemps considéré comme le protocole standard reste à définir. Le rôle de l'intensification thérapeutique précoce chez les patients à mauvais pronostic ainsi que les modalités optimales d'intensification chez les patients en rechute restent flous.

Si l'on fonde certains espoirs sur l'inhibition des mécanismes de résistance aux chimiothérapies actuellement utilisée, l'absence de nouveaux antimétabolites, ou de nouveaux analogues nucléosidiques ne permet pas de prévoir des progrès notables dans les protocoles de chimiothérapies.

Une autre approche prometteuse semble donc être l'administration d'anticorps monoclonaux ou l'induction d'une réponse immunitaire spécifique dirigée contre l'idiotype exprimé par les cellules lymphomateuses.

Chapitre I- Cellules du système immunitaire :Nomenclature, physiologie, phénotype et différenciation des cellules lymphoïdes.

[4] [5] [9] [37] [71]

I-1- Introduction.

Les cellules intervenant dans les réactions immunitaires sont dérivées de la moelle hématopoïétique, réservoir des cellules des lignées hématopoïétiques dont font partie les cellules du système immunitaire.

Leur différenciation est contrôlée par un ensemble de cytokines et facteurs de croissance qui agissent de façon coordonnée sur leur prolifération et leur maturation, lors de l'hématopoïèse.

La caractérisation des cellules au cours des différentes étapes de l'hématopoïèse peut être réalisée par des études morphologiques mais l'essor des techniques immunohistochimiques, le développement des anticorps monoclonaux (AcMo) et plus récemment de la biologie moléculaire permet maintenant de localiser une cellule dans un stade de différenciation bien précis. Il faut cependant garder à l'esprit que la différenciation est une succession d'événements dont chaque étape n'est pas finie.

Les polynucléaires (neutrophiles, éosinophiles et basophiles), les cellules de la lignée monocyte/macrophage avec leurs multiples formes tissulaires constituant le système réticulo-histiocytaire assurent l'immunité non spécifique de mise en jeu rapide et participent à l'induction, régulation et expression de la réponse immunitaire spécifique.

Cette immunité spécifique ou adaptative est médiée par les Lymphocytes T et B. Les actions sélectives et efficaces sont assurées par des récepteurs spécifiques de l'antigène présents à la surface des lymphocytes T (TcR) et B (BcR ou slg Immunoglobuline de surface).

Si la structure protéique et les gènes de ces deux types de récepteur présentent de remarquables similitudes leurs capacités d'interaction avec les Ag diffèrent significativement.

On parlera pour les TcR de «reconnaissance de l'Ag restreinte au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)», puisque l'activation du Lymphocyte T effecteur va nécessiter une coopération entre la cellule dite présentatrice de l'antigène (comme la cellule dendritique, la cellule de Langerhans ou le Lymphocyte B) et le Lymphocyte T4.

Ce lymphocyte T, caractérisé par un marqueur dit CD4 et qui possède un récepteur extrêmement spécifique (le complexe TcR/CD3) ne va pouvoir repérer et être activé que par des peptides antigéniques préalablement modifiés puis réexprimés à la surface des cellules présentatrices de l'antigènes, liés aux molécules du CMH.

Les lymphocytes B sont, eux, capables de reconnaître des Ag dans leur configuration native, libres en solution ou en surface sur les membranes cellulaires.

L'expression des molécules slg et TcR par les lymphocytes au cours de leur différenciation fait intervenir plusieurs processus de réarrangement dans les gènes des slg et du TcR. La lymphopoïèse B se déroule principalement dans la moelle alors que la T est surtout thymique.

I-2- Hématopoïèse.

L'hématopoïèse se caractérise donc par une succession d'étapes séquentielles de différenciation aboutissant à des cellules de la lignée lymphoïde et de la lignée myéloïde ; chaque étape se définissant par :

- des modifications phénotypiques avec expression de molécules membranaires, marqueurs immunologiques potentiels, pouvant être spécifiques de l'individu, ce sont les marqueurs du *complexe majeur d'histocompatibilité* HLA (Human Leucocyte Antigen) ou bien encore spécifique de tel ou tel type particulier de cellules et pouvant être associés à une fonction cellulaire spécifique.
- des propriétés fonctionnelles particulières à certains stades de maturation.

Les lymphocytes B et T sont l'aboutissement de la différenciation lymphoïde qui se déroule dans la moelle osseuse et les tissus lymphoïdes.

La différenciation myéloïde assure la production des cellules des lignées monocytaires, granulocytaires, érythroïdes et des plaquettes dont la production se déroule essentiellement dans la moelle osseuse. [**Figure 1**]

Les différents marqueurs antigéniques exprimés à la surface des membranes cellulaires sont spécifiques des fonctions et des stades de différenciation cellulaire, mais contrairement aux marqueurs HLA, ils ne sont pas spécifique d'espèce. Durant ces trente dernières années, ils ont été classés et déterminés en fonction de leur capacité à fixer ou non les AcMo (Anticorps Monoclonaux).

Une harmonisation s'est donc petit à petit opérée pour leur dénomination et on emploie maintenant les initiales CD suivies d'un numéro « cluster of differentiation », ce qui peut être approximativement traduit en français par « marqueur de différenciation ».

Chaque marqueur a donc un code CD et cette nomenclature rassemble sous le même CD des molécules identiques détectées dans différentes espèces (homme, souris, rat...).

Les marqueurs pour les lignées lymphoïdes sont plus discriminants et plus nombreux que ceux disponibles pour la lignée myéloïde.

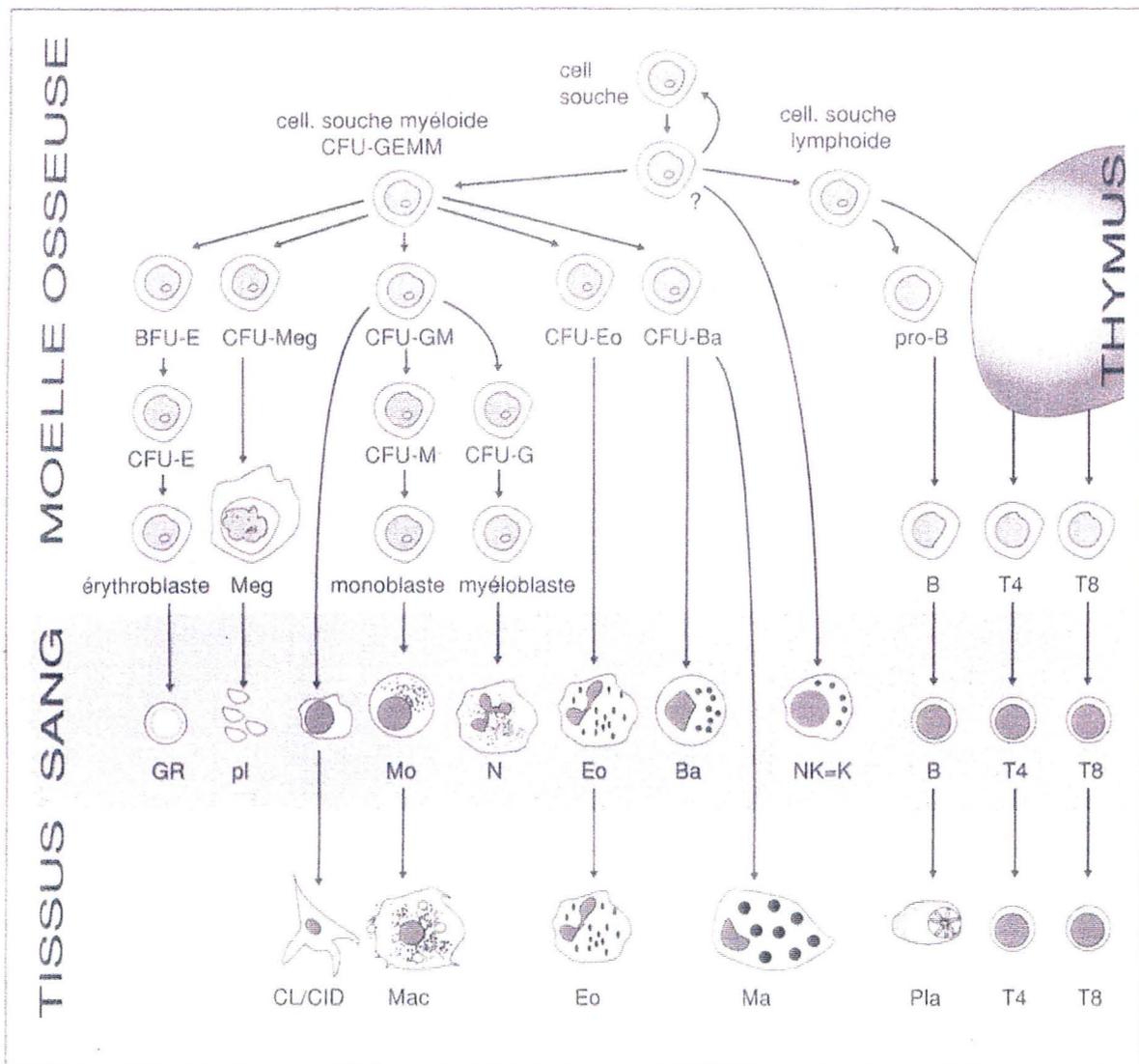
Il est également intéressant de souligner que lors de l'hématopoïèse, la prolifération et la différenciation de chaque lignée sont contrôlées par des signaux extracellulaires, par l'action de cytokines, de facteurs de croissance ou encore par contact membranaire. L'hématopoïèse basale est entretenue par les cytokines, les facteurs de croissance produits au sein du microenvironnement médullaire et par les cellules stromales.

L'hématopoïèse basale peut cependant être modifiée par un ensemble de médiateurs produits par les macrophages dans le cadre de l'immunité naturelle et les lymphocytes T lors de la mise en jeu de l'immunité adaptative ; c'est la stimulation de l'hématopoïèse inductible qui agit en activant les cellules souches myéloïdes. Ces molécules sont des immunomodulateurs thérapeutiques potentiels.

Figure 1. Schéma simplifié de l'hématopoïèse.

Schéma simplifié de l'hématopoïèse

Le site de divergence entre mastocytes et basophiles n'est pas encore précisé. Les cellules dendritiques se différencient probablement directement à partir de CFU-GEMM sous l'influence du GM-CSF et du $TNF\alpha$. Les cellules NK forment une population hétérogène dont certaines dérivent des cellules-souches lymphoïdes sans se différencier dans le thymus.



I-3- Lignées lymphocytaires.

I-31- Morphologie.

Les lymphocytes sont des cellules arrondies de petite taille (7 à 9 μ de diamètre) avec un grand noyau à chromatine dense et un mince anneau de cytoplasme contenant des ribosomes mais très peu de lysosomes et de mitochondries. Il n'y a pas de différence morphologique entre les lymphocytes de la lignée B et de la lignée T. Cet aspect morphologique, dit de petit lymphocyte, correspond à des cellules au repos en phase G₀ du cycle cellulaire [**Figure 2**] . Les grands lymphocytes granuleux représentent environ 5% des lymphocytes du sang. Ils ont un cytoplasme plus abondant que celui des petits lymphocytes , et possèdent des granules azurophiles, denses aux électrons, correspondant à des lysosomes primaires. [**Figure 3** et **Figure 4**]

Sous l'influence d'un signal activateur , ces lymphocytes sont susceptibles d'entrer en phase G₁ du cycle cellulaire, caractérisée par une décondensation de la chromatine, une augmentation du volume cellulaire et du contenu en protéines et en ARN. Sous l'influence de signaux de progression, cette cellule peut passer de G₁ à la phase S caractérisée par une réplication de l'ADN qui culmine en phase G₂ précédant la mitose. Ces lymphocytes activés sont désignés sous le nom de lymphoblastes. Les lymphoblastes en prolifération peuvent à nouveau se différencier en petits lymphocytes ou, dans le cas de la lignée B, en plasmocytes ou Immunoblastes. [**Figure 5**]

I-32- Différenciation et expression des marqueurs lymphocytaires T.

Le schéma du développement des cellules B et T est décrit chez la souris et semble être très semblable chez l'homme.

Les lymphocytes T et B sont dérivés des cellules souches hématopoïétiques multipotentes présentes dans le foie foetal et plus tard dans la moelle osseuse.

Encore aujourd'hui, on pense qu'il existe un précurseur lymphoïde (sans marqueur spécifique connu a ce jour), toujours non identifié.

Le lymphocyte T se différencie donc à partir de ce précurseur médullaire CD 34+, 44+ commun au Lymphocyte B.

Puis les futurs lymphocytes T , issus des cellules souches de la moelle osseuse, trouvent dans le thymus un microenvironnement favorable à leur différenciation aboutissant à l'expression d'un TcR mature et fonctionnel. [**Figure 6**]

Cette différenciation intrathymique comprend le réarrangement des segments génétiques codant pour les chaînes des récepteurs T, l'expression de ces récepteurs associés à la molécule CD3, la multiplication des thymocytes, et surtout leur sélection par les molécules du CMH et les peptides qui leurs sont associés. Les anticorps monoclonaux ont permis de suivre les modifications de leur profil antigénique au cours de leur séjour intrathymique . Dans le thymus se localisent trois populations différentes de lymphocytes : le prothymocyte, les thymocytes intermédiaires dans la zone corticale au contact des « nurse cells » et les thymocytes matures dans la zone médullaire. Il est actuellement établi que ces trois populations représentent trois stades de la différenciation des lymphocytes T. Les prothymocytes et les thymocytes intermédiaires possèdent une activité terminal-transférerase(TdT).

Figure 2. Petit lymphocyte.

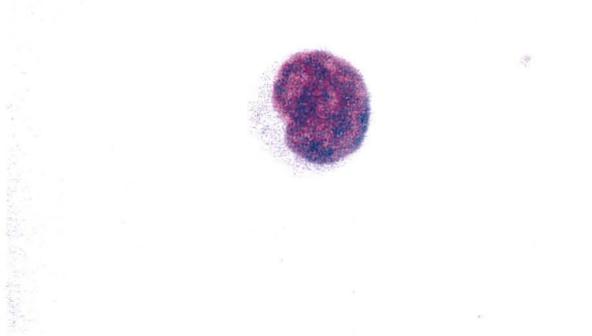


Figure 3. Grand lymphocyte.

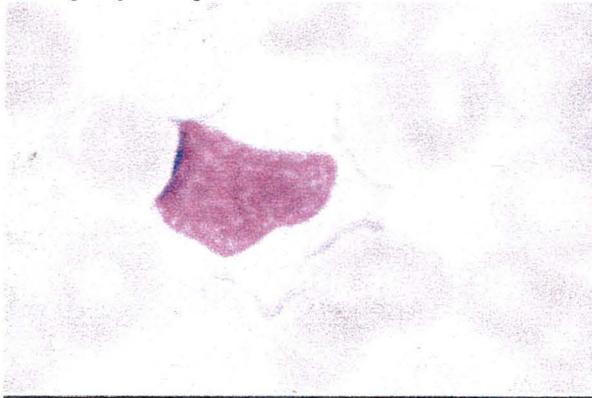


Figure 4. Grand lymphocyte.

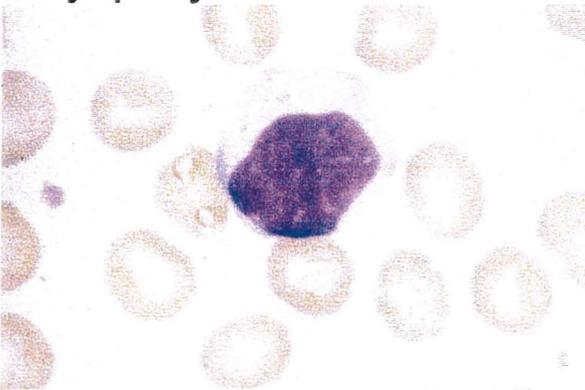


Figure 5. Immunoblaste.

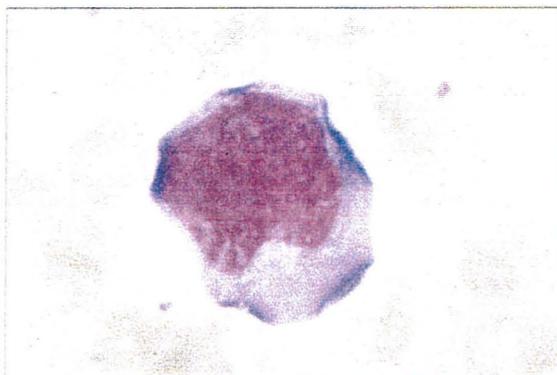
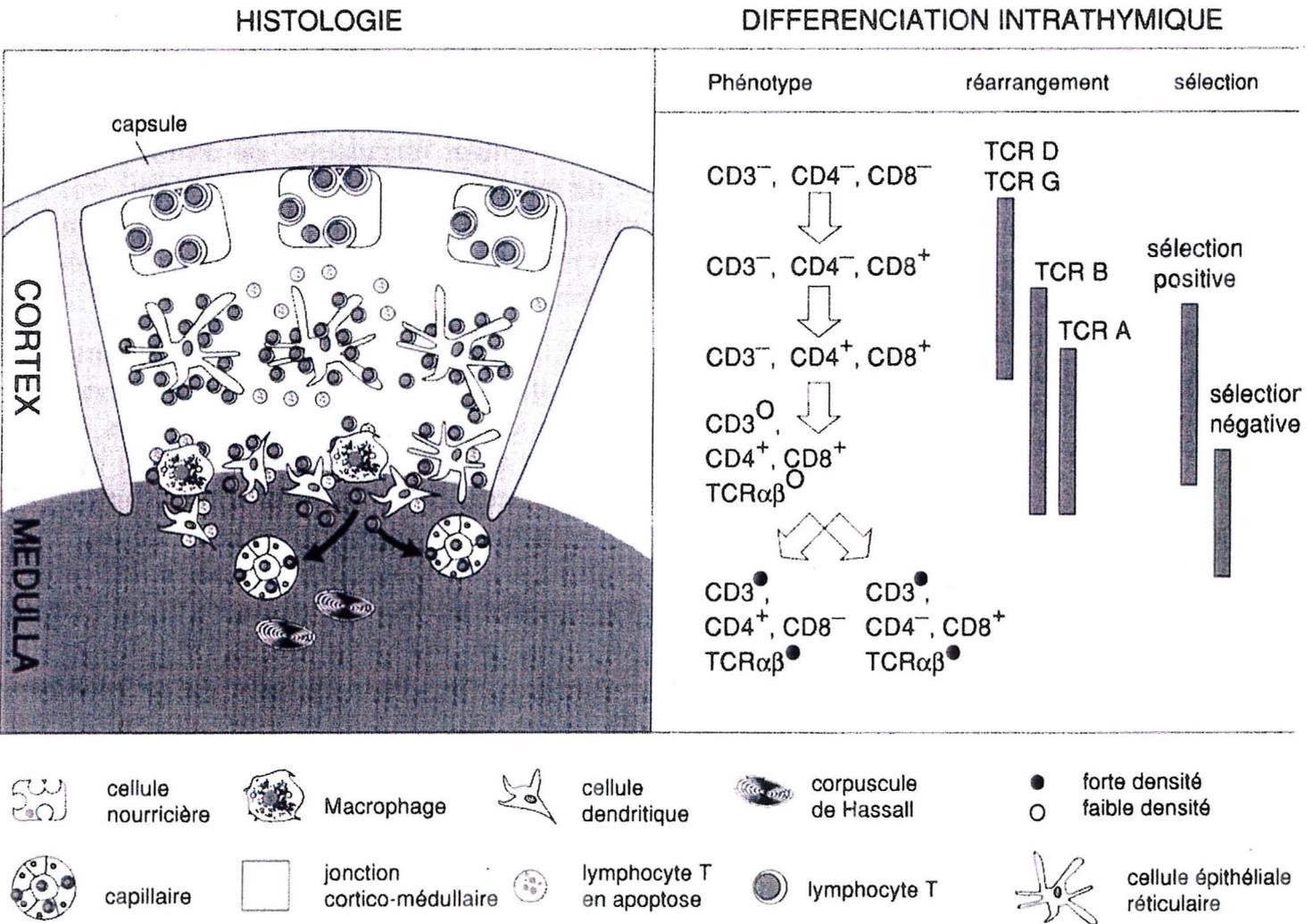


Figure 6. Différenciation intrathymique des Lymphocytes T.



Dans le cortex thymique, les prothymocytes n'expriment que les antigènes CD2, CD7, CD38 et l'antigène HLA-DR. A ce stade l'antigène Pan-CD3 serait uniquement présent dans le cytoplasme.

Le stade de thymocyte intermédiaire serait marqué par l'apparition des antigènes CD1, CD5, CD4 et CD8, mais surtout par la migration de la molécule CD3 à la surface des cellules où elle formerait avec le récepteur TcR le complexe CD3/TcR α/β qui intervient dans la reconnaissance des antigènes. A ce stade les thymocytes activés par l'interaction peptide-CMH/TcR meurent par apoptose avant d'être phagocytés par les macrophages de la jonction cortico-médullaire, ce qui conduit à l'élimination, par sélection négative, des thymocytes fortement autoréactifs.

Le petit nombre de cellules sélectionnées positivement (environ 5%) poursuit sa différenciation et exprime fortement à sa surface les molécules CD3 et TcR, (seuls marqueurs spécifiques de la lignée T) avant de finir par acquérir le phénotype de Lymphocytes T matures CD4+CD8- ou CD4-CD8+.

Les lymphocytes T matures TcR- $\alpha\beta$ + expriment, en effet, soit les molécules CD4, soit les molécules CD8.

La majorité des cellules CD4 a un rôle auxiliaire ou helper alors que la plupart des lymphocytes T CD8+ ont des fonctions cytotoxiques/suppressives. Cependant une sous population de cellules T CD4+ peut aussi avoir une activité cytotoxique.

Il existe une forte corrélation entre l'expression de la molécule CD4 et la reconnaissance de l'Ag restreinte au CMH de classe 2, et entre l'expression de l'antigène CD8 et la reconnaissance restreinte au CMH de classe 1.

Cette association implique que les cellules T CD4+ ne peuvent être activées que si l'antigène est présenté par les cellules exprimant le CMH de classe 2, c'est à dire les lymphocytes B, les monocytes et la plupart des macrophages.

En revanche, les lymphocytes CD8+ peuvent être activés par une plus grande variété de cellules, car toutes les cellules nucléées expriment les molécules de classe 1. Plusieurs travaux indiquent que l'antigène reconnu par les cellules T TcR- $\alpha\beta$ + est un fragment peptidique issu d'une dégradation de l'antigène qui se lie à un site spécifique sur la molécule du CMH au sein du réticulum endoplasmique dans lequel il pénètre sous l'influence d'un transporteur.

La maturation finale des thymocytes dans la zone médullaire conduit à la perte de la molécule CD1 et à l'individualisation des lymphocytes auxiliaires CD4+ et suppresseurs ou cytotoxiques CD8+. Ces cellules passent alors dans le sang pour aller coloniser le tissu lymphoïde périphérique. Sous l'influence d'une stimulation antigénique, les lymphocytes T sont susceptibles de subir un ensemble de transformations morphologiques et antigéniques avec apparition d'antigènes dits d'activation tels que le récepteur pour l'IL2 (CD25), les antigènes Ki-1(CD30), CD70, CD71 et HLA-DR.

La majorité des lymphocytes thymiques possèdent le récepteur TcR α/β et seulement 1% le TcR γ/δ . Cependant les étapes intermédiaires menant du lymphocyte T « vierge » à l'immunoblaste après stimulation sont mal connues.

Les composants non lymphoïdes du cortex thymique jouent donc un rôle majeur sur la maturation des précurseurs thymiques. Par leur TcR, les thymocytes interagissent avec des cellules épithéliales, macrophages ou encore dendritiques grâce aux molécules d'adhésion CD2/LFA-3, LFA-1/ICAM-1 et Mac-1.

La production de nouveaux lymphocytes T augmente dès la 6^{ème} semaine de vie foetale jusqu'à la puberté pour diminuer ensuite progressivement. La nature des cellules stromales qui contrôlent et stimulent la lymphopoïèse T reste inconnue.

I-33- Différenciation et expression des marqueurs lymphocytaires B.

La moelle osseuse est le siège de l'hématopoïèse et le site de différenciation des lymphocytes B. Les cellules pro-B (HLA-DR+) et pré-B dérivées des cellules souches CD34+ se multiplient au contact de l'endosteum de la travée osseuse et de cellules réticulaires primitives qui sécrètent les différentes cytokines nécessaires à la multiplication et à la différenciation cellulaire. [**Figure 7**]

Elles évoluent en cellules pro/pré-B définies par l'apparition des premiers marqueurs B, molécules CD19 et CD37 (l'un des marqueurs B les plus précoces). [**Figure 8**]

Il s'y associe ensuite d'autres marqueurs des cellules B, les antigènes CD22 et CD20. Ultérieurement, les cellules pré-B expriment l'antigène CALLA (common acute lymphoblastic leukemia/lymphoma antigen) ou CD10.

L'apparition de chaînes μ -cytoplasmique, sans chaîne légère associée, marque la dernière étape de la différenciation des cellules pré-B dans la moelle hématopoïétique.

Les cellules pro-B et pré-B possèdent également une enzyme très utile au diagnostic des lymphomes lymphoblastiques, la terminal désoxynucléotidyl transférase (TdT) impliquée lors des réarrangements des gènes.

Comme dans le thymus, un grand nombre de cellules B meurent par apoptose et sont phagocytées par des macrophages. Les cellules B matures quittent la moelle en traversant la paroi des sinus veineux.

Après leur sortie de la moelle osseuse, les lymphocytes B vont passer dans le sang pour aller coloniser le tissu lymphoïde périphérique.

Dans les ganglions lymphatiques, les cellules B se localisent essentiellement dans les follicules alors que les lymphocytes T siègent entre les follicules, dans le cortex profond ou zone paracorticale. Dans les follicules lymphoïdes, les lymphocytes B se disposent soit à la périphérie (lymphocytes du manteau), soit au centre des follicules dans une zone appelée centre germinatif qui n'apparaît qu'après stimulation antigénique. [**Figures 9 et 10**]

Les lymphocytes du manteau et du centre antigénique ont un phénotype différent. Les premiers, petits lymphocytes « vierges », non stimulés, possèdent des Immunoglobulines de surface (IgS)($\mu+\delta$), divers antigènes B (CD19, CD20, CD22) et la molécule CD21 (récepteur pour la fraction C3d et le virus d'Epstein Barr).

Chez l'homme, une sous population de lymphocytes B ganglionnaires exprime des antigènes normalement associés aux lymphocytes T : l'antigène CD5.

Après une stimulation antigénique, les lymphocytes folliculaires sont activés, prolifèrent et subissent des modifications phénotypiques. La différenciation vers la lignée plasmocytaire est marquée par l'apparition d'Ig cytoplasmiques, l'acquisition de nouveaux antigènes CD38 et la perte de la plupart des antigènes B (CD19, 20, 22).

[**Figure 11**]

Après une stimulation antigénique, les petits lymphocytes des follicules subissent donc une série de transformations morphologiques les menant du stade « vierge » à celui de plasmocytes [**Figure 12**]. Toutes ces cellules aisément reconnaissables dans un centre germinatif normal [**Figure 13**] pourront donner naissance à des lymphomes malins d'architecture folliculaire ou diffuse.

L'activation des cellules B folliculaires se ferait grâce à l'intervention des cellules folliculaires dendritiques, qui sont restreintes aux follicules [**Figure 14**].

Figure 7. Représentation schématique de l'hématopoïèse des cellules B dans la moelle osseuse.

K.Jacobsen et DG.Osmond EUR J Immunol 1990,20, 2395

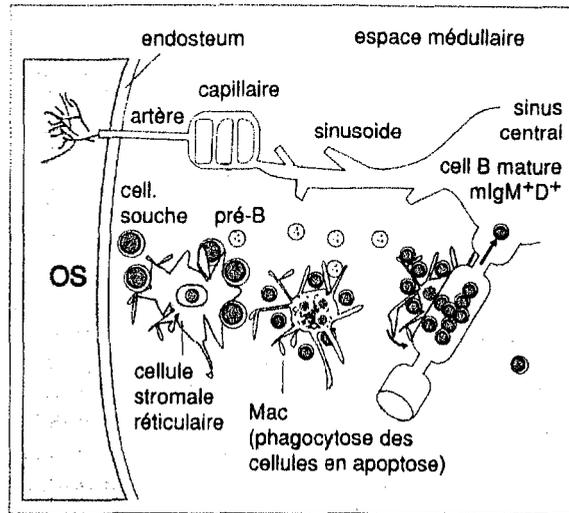


Figure 8. Antigènes de surface des cellules de la lignée B.

d'après J Banchereau et F Rousset. *Adv Immunol* 1992, 52, 125-262

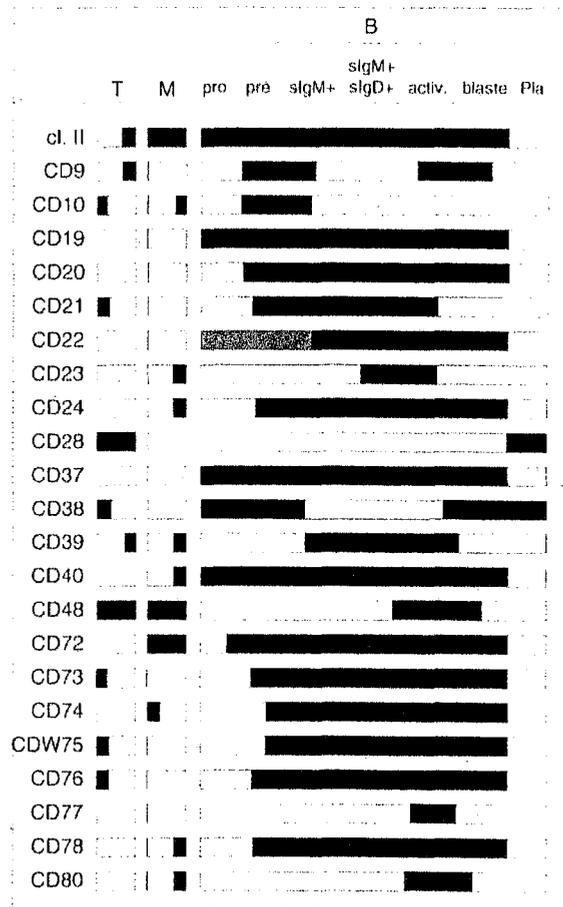
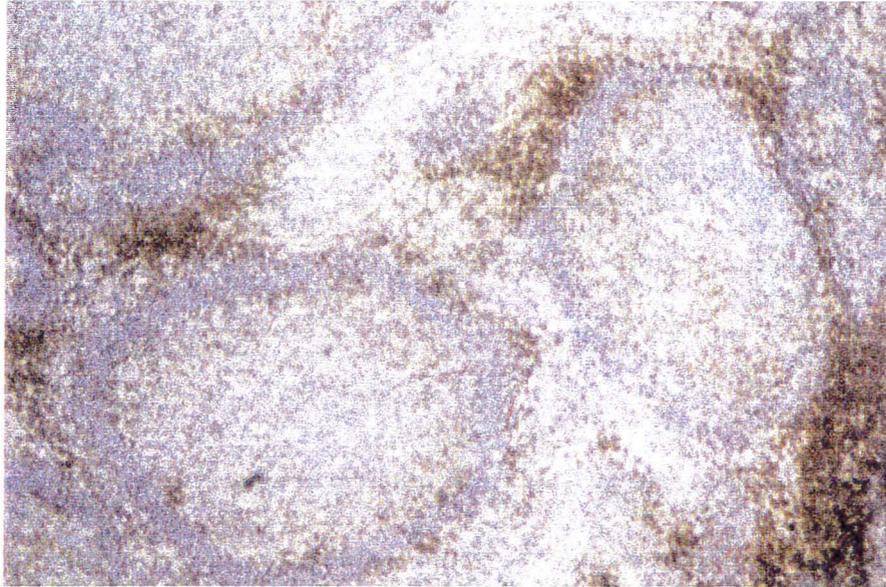


Figure 9. Follicule Lymphoïde.

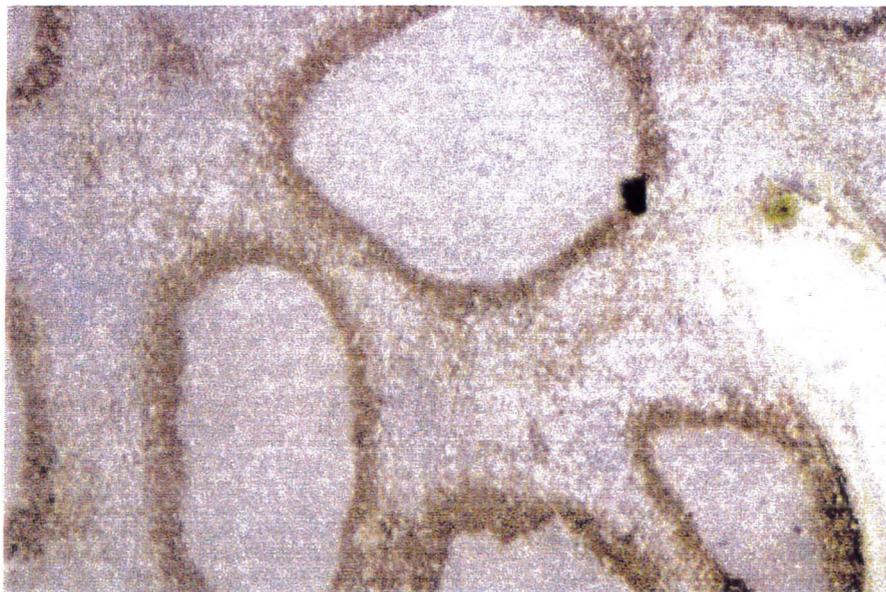
*Cliché Immunoperoxydase sur coupe congelée x 125
M. Raphael, Hôpital Avicenne, Bobigny.*



Immunomarquage CD3 exprimé sur les cellules T situées essentiellement dans les zones interfolliculaires et présence de quelques Lymphocytes T dans les centres germinatifs

Figure 10. Follicule Lymphoïde.

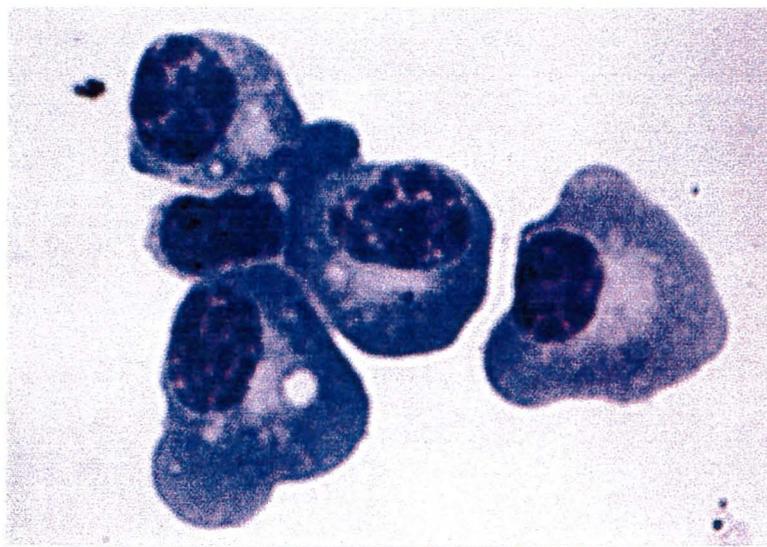
*Cliché Immunoperoxydase sur coupe congelée x 125
M. Raphael, Hôpital Avicenne, Bobigny.*



Immunomarquage des cellules de la couronne lymphocytaire ou manteau, exprimant la chaîne lourde IgD.

Figure 11. Plasmocytes typiques CD20- CD38++.

P. Merville, J. Dechanet, Y. Liu et J. Banchereau
Centre de Recherches Immunologiques Schering-Plough, Dardilly France.



Les cellules B ont été obtenues à partir d'amygdales humaines, séparées par gradient d'albumine de différente densité puis isolées par un trieur de cellules sur la base de l'expression membranaire des molécules CD20 et CD38. Les cellules ainsi triées ont été fixées par le méthanol et colorées au Giemsa.

Figure 12. Lymphoplasmocyte.

P. Merville, J. Dechanet, Y. Liu et J. Banchereau
Centre de Recherches Immunologiques Schering-Plough, Dardilly France.

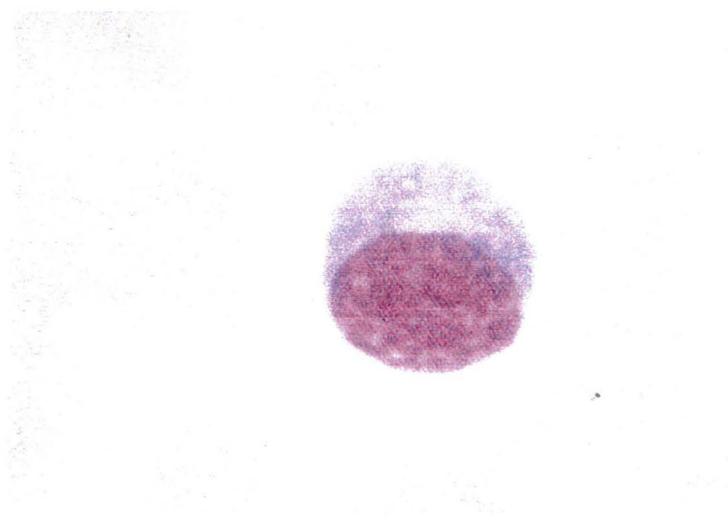
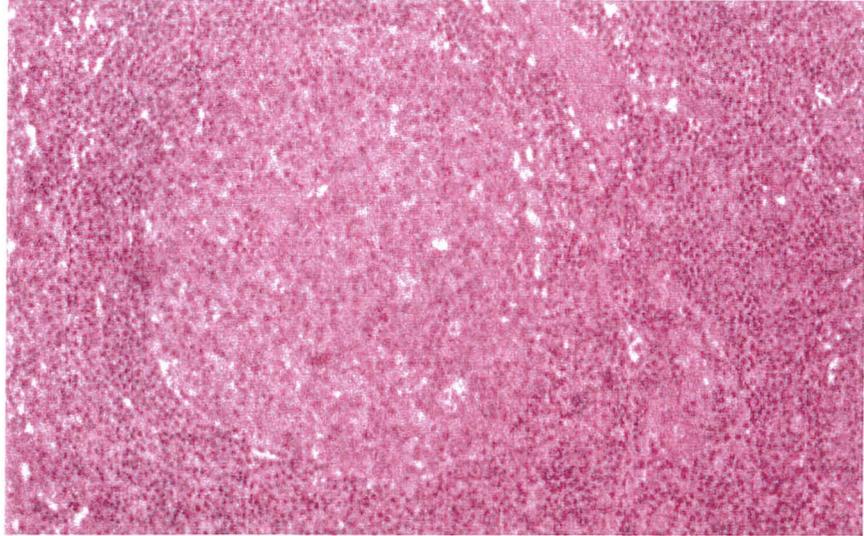


Figure 13. Follicule Lymphoïde.

Hématéine Eosine x 200
Cliché Dr. J. Feuillard, Hôpital Avicenne, Bobigny.

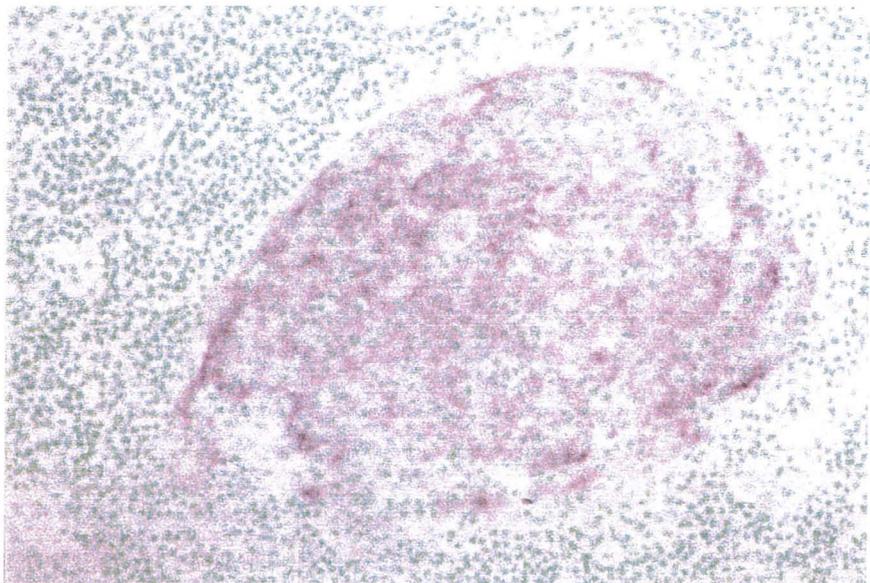


La couronne lymphocytaire ou manteau est la partie la plus large située entre la zone claire du centre germinatif et la capsule.

Le centre germinatif est composé d'une zone sombre (compartiment de prolifération comportant les centroblastes) et d'une zone claire (compartiment de différenciation ou sont situés les centrocytes).

Figure 14. Follicule Lymphoïde.

Cliché Immunoperoxydase x 200
M. Raphael, Hôpital Avicenne, Bobigny.



Réseau des cellules dendritiques centrofolliculaires dans le centre germinatif.

Les toutes premières étapes de la transformation des lymphocytes « vierges » sont mal connues. L'une de ces étapes serait l'apparition d'une cellule blastique à noyau rond à l'origine de certains lymphomes lymphoblastiques. Elle évoluerait vers une grande cellule à noyau rond, le centroblaste, présentant des nucléoles au contact de la membrane nucléaire.

Les centroblastes vont à leur tour se différencier en cellules à noyaux encochés : les grands et petits centrocytes .

C'est à partir de ces dernières cellules que se formerait le pool des cellules B mémoires. Les « lymphoblastes » provenant de l'activation des lymphocytes pourraient choisir une autre voie de différenciation conduisant à une cellule volumineuse à noyau rond, fortement nucléolé, et à cytoplasme très basophile, l'immunoblaste [**Figure 5**]. Par la suite, l'immunoblaste donnera naissance aux plasmocytes qui sécrètent les Ig. L'origine de nombreuses cellules n'est pas clairement établie. Certaines comme les lymphocytes B monocytoïdes, se développeraient à partir de cellules localisées à la périphérie des follicules lymphoïdes encore appelée zone marginale.

I-4- Expression des Ac, sIg et TcR à la surface des lymphocytes.

I-4-1- Généralités.

Les molécules de l'immunité spécifique comprennent d'une part, les immunoglobulines, Ig ou Ac, qui sont sous forme soluble dans les liquides biologiques ou sous forme de récepteurs membranaires à la surface des lymphocytes B (BcR ou B cell receptor), et d'autre part, les récepteurs des lymphocytes T (TcR ou T cell receptor).

Ces molécules assurent la reconnaissance des épitopes des Ag par des sites complémentaires stéréospécifiques, les paratopes. Si le système immunitaire est capable de reconnaître autant d'antigènes et d'épitopes antigéniques, c'est grâce à l'incroyable diversité (au moins 10^7 à 10^9) des régions hypervariables des Ig [**Figure 15**] mais aussi sur les sIg et les TcR [**Figure 16**].

On estime par exemple qu'un organisme adulte contient à un instant donné de l'ordre de 10^{20} molécules d'Ig dont plus de 10^9 espèces moléculaires différentes et plus de 10^4 clones différents de lymphocytes T. Ces molécules sont bifonctionnelles. La partie N-terminale, portant le paratope, assure la reconnaissance spécifique. La partie C-terminale déclenche des signaux biologiques, la transduction, induits par la liaison de l'épitope au paratope.

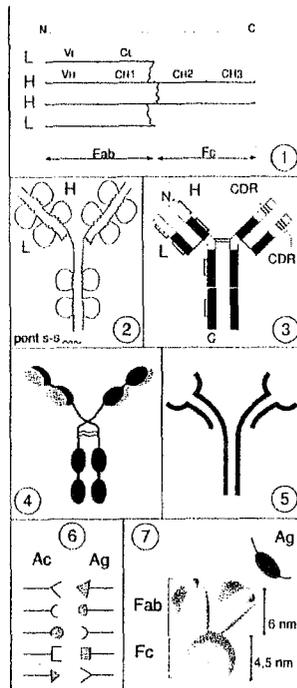
Quand les molécules d'Ig ou de TcR d'un lymphocyte B ou T particulier reconnaissent un déterminant antigénique, un processus d'activation du lymphocyte se met en œuvre conduisant à la prolifération cellulaire, un clone.

Les lymphocytes B issus de ce processus peuvent maturer en plasmocytes qui sécrètent les Ig en grandes quantités, tandis que des lymphocytes T activés acquièrent des fonctions spécifiques régulatrices et cytotoxiques (CD4+ et CD8+).

Les molécules d'Ig sont composées de 2 chaînes lourdes H et 2 chaînes légères L, reliées entre elles par des ponts dissulfure. Les chaînes polypeptidiques dites chaînes légères sont de type κ ou λ et les chaînes lourdes de type μ , δ , $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$, $\gamma 4$, $\alpha 1$, $\alpha 2$ et ϵ . Le type de la chaîne lourde définit la classe et la sous classe de l'Ig.

Les chaînes L d'un lymphocyte B ou d'un clone B sont toutes du même type : κ ou λ .

Figure 15. Différentes représentations d'une molécule d'anticorps.



Modèle 1 de RR.Porter (1959) basé sur les études de la séquence des chaînes, montrant la symétrie de la molécule, la position des ponts S-S interchaînes, les domaines d'homologie et les 2 types de fragments de clivage par la papaine : Fab et Fc.

Modèle 2 modèle linéaire destiné à souligner l'organisation en domaines représentés comme une boucle autour d'un pont S-S intrachaine.

Modèle 3 de RL.Wasserman et JP.Capra (1977) utilisé pour indiquer la position des régions hypervariables ou régions déterminant la complémentarité (CDR) au sein des régions variables VH et VL. Ces régions CDR forment le site de liaison à l'antigène.

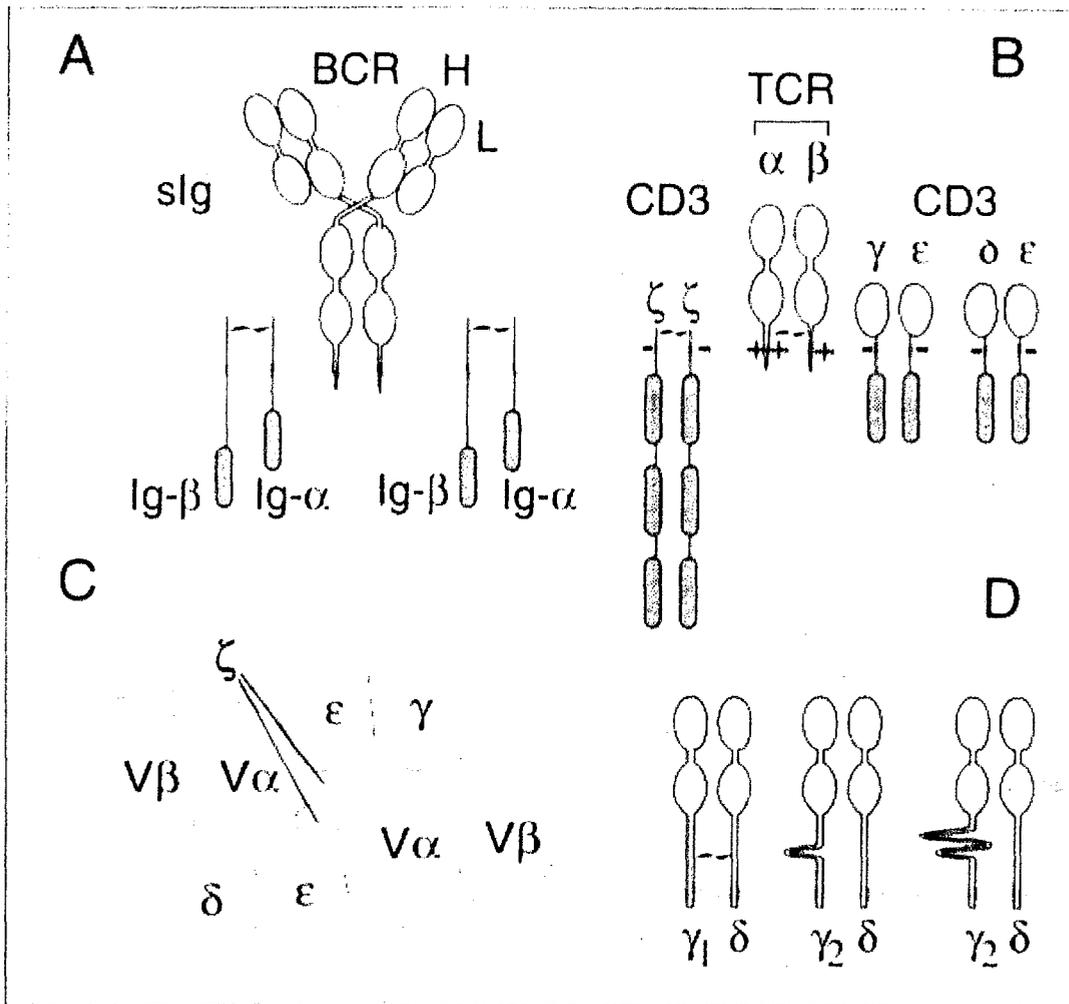
Modèle 4 de I.Roitt, J.Brostoff, DK.Mall montrant l'organisation en domaines, et les ponts S-S entre chaînes H.

Modèle 5 de AK ;Abbas, AH.Lichtman et JS.Pober permettant de rappeler que le site Ac est « partagé », formé à la fois par les régions hypervariables des chaînes H et L.

Modèle 6 très souvent utilisé afin de souligner la complémentarité stéréospécifique entre le paratope et l'épitope.

Modèle 7 en trèfle, dérivé des études cristallographiques. Il rappelle la structure des fragments Fab due à l'enroulement des chaînes H et L, la flexibilité des 2 fragments Fab autour de la région charnière. Ce modèle ne tient pas compte de la longueur de la région charnière, très différente selon les classes et sous classes d'Ig. Les sites Ac, ou paratopes accessibles à la surface des Fab sont délibérément agrandis. Le contraste noir/blanc entre épitope et paratope symbolise la complémentarité des 2 structures et les forces d'attraction qui s'exercent entre elles.

Figure 16. Structure des BcR et des TcR.



- A.** Structure schématisée du BcR montrant les chaînes H et L des Ig et deux hétérodimères Ig α -Ig β .
- B.** Représentation schématisée d'un complexe moléculaire TCR $\alpha\beta$ /CD3. Le schéma montre les chaînes α et β du TcR et deux unités fonctionnelles du complexe CD3 : $\gamma\epsilon\delta\epsilon$ à droite et $\zeta\zeta$ à gauche.
- C.** Modèle de l'organisation des complexes TcR/ CD3 basé sur l'équilibre des charges positives et négatives des régions transmembranaires de chaque chaîne (vue plongeante sur la surface cellulaire).
- D.** Trois types de récepteurs $\gamma\delta$. La chaîne γ_1 est liée à δ par un pont S-S. Deux types de chaînes γ_2 , de longueur différente, sont pourvues de liaison S-S avec la chaîne δ . La chaîne γ_2 (2x) de 40 à 44 kDa et la chaîne γ_2 (3x) de 55 kDa sont caractérisées par une duplication et une triplification de l'exon 2.

Cinq classes d'Ig sont connues : IgM, IgD, IgG, IgA et IgE. Des sous classes existent à l'intérieur des IgG et des IgA : IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 et IgA1 et IgA2. La classe ou sous classe d'une molécule d'Ig est déterminée par la région constante de la chaîne H. Elle est exprimée indépendamment du type de chaîne légère L.

La région constante des chaînes H est responsable des fonctions effectrices telles que signalisation transmembranaire, l'activation du complément et la liaison aux récepteurs Fc.

Un lymphocyte B n'exprimera qu'un seul type de chaînes légères L (λ ou κ), alors que différentes chaînes H peuvent être exprimées.

Dans le sang périphérique, la majorité des lymphocytes B expriment à la fois des IgM et des IgD sur la membrane cellulaire, tandis qu'une minorité exprime des IgA ou des IgG. Dans les ganglions ou les autres tissus lymphoïdes, une fréquence élevée de lymphocytes exprimant des IgG et des IgA est retrouvée.

Les chaînes H et L sont composées de plusieurs domaines, comprenant environ 110 acides aminés.

La région variable des chaînes des Ig comprend un seul domaine. De la même façon, les L possèdent une région constante composée d'un domaine (CL), mais la plupart des régions constantes des H contiennent 3 domaines (CH1, CH2, CH3) et une région charnière (h) située entre CH1 et CH2. **[Figure 15, modèle 1]**

Chaque domaine d'Ig est codé par un exon précis. La région variable des chaînes d'Ig qui consiste en une combinaison d'un gène V (variable), D (diversité) et J (« joining ») dans le cas des H, et une combinaison des gènes V et J dans le cas des L. Au cours de la différenciation des cellules B, ces gènes V, D et J sont réunis au cours du processus de réarrangement. Les domaines constants des chaînes des Ig sont codés par un gène C (constant). Le locus IGH est situé en 14q32, IGK (κ) en 2p12 et IGL (λ) en 22q11.

Chaque locus d'Ig comporte un nombre important de gènes V, appartenant à différents sous groupes (6 sous groupes VH, 4 V κ , 9 V λ) et un nombre limité de segments de jonction (6 JH, 5 J κ , 4 à 7 C λ) et des gènes constants (9 CH, 1C κ , 4 à 7 C λ) fonctionnels.

De plus, le locus IGH comprend environ 50 segments de diversité D.

Le TcR est composé de 2 chaînes qui sont aussi reliées par un pont dissulfure. A la surface de la cellule le TcR est étroitement associé aux molécules CD3 formant le complexe CD3-TcR.

Il existe deux types différents de TcR : le TcR- $\alpha\beta$ résultant de l'association d'une chaîne α et d'une chaîne β , et le TcR- $\gamma\delta$. La majorité des lymphocytes T matures (85-95%) dans le sang périphérique expriment le TcR- $\alpha\beta$, tandis qu'une minorité exprime le TcR- $\gamma\delta$.

Contrairement aux divers isotypes des chaînes d'IgH et IgL, les 4 chaînes différentes du TcR ne s'associent pas ensemble au hasard : on n'a jamais retrouvé, pour le moment, des cellules TcR- $\alpha\gamma$ ou TcR- $\beta\gamma$.

Cependant, l'organisation des gènes des TcR est comparable à celle des Ig avec des gènes V, J et C pour les chaînes α et γ ; V, D, J et C pour les chaînes β et δ . Les locus TCRA et TCRD (α et δ) se chevauchent en position 14q11.2 ;TCRG(γ) est localisé en 7p15 et TCRB(β) en 7q35.

La molécule CD3 est composée d'au moins 6 chaînes protéiques. Elle est impliquée dans les signaux de transduction du TcR vers le cytoplasme. Chacune des chaînes des Ig et du TcR est composée d'une région constante C et d'un domaine variable V,

responsable de la reconnaissance de l'antigène. De façon inattendue et remarquable, un nombre limité de gènes rend compte de la diversité des récepteurs. Les régions V des Ig et des chaînes du TcR sont codées par une combinaison de segments de gènes qui sont différents pour chaque lymphocyte ou clone de lymphocytes. L'association des ces segments de gènes explique l'incroyable diversité des paratopes exprimés et, est obtenue par un procédé appelé réarrangement génique.

I-4-2- Réarrangement des gènes des immunoglobulines et du récepteur T au cours de la différenciation lymphoïde.

Les études réalisées chez la souris et l'homme ont montré que le réarrangement des gènes des Ig et du TcR se déroule de façon programmée au cours de la différenciation. On a également remarqué que les réarrangements d'ADN qui ont lieu lors des étapes initiales de la différenciation des lymphocytes T et B peuvent favoriser des cassures et translocations chromosomiques, notamment entre un chromosome porteur de gènes d'Ig ou de TcR et un chromosome porteur d'un protooncogène.

Des exemples de translocations impliquant les proto-oncogènes *c-myc* (8q24), *bcl1* (11q13), *bcl-2* (18q21) ont été décrits dans certains Lymphomes et leucémies. Par exemple le lymphome de Burkitt est caractérisé par une translocation t(8 ;14) dans 75% des cas ou bien t(8 ;22) ou t(2 ;8) dans 25% des cas.

I-4-2a- Réarrangement des gènes des Ig au cours de la différenciation B.

Pour synthétiser une chaîne d'Ig, ces gènes doivent subir un réarrangement qui a lieu dans les cellules de la lignée B, au stade initial de la différenciation.

Ce réarrangement consiste à juxtaposer un gène V avec un segment J pour les chaînes L et pour les chaînes H, un segment D avec un segment J puis un gène V avec DJ. Ce réarrangement se fait grâce à un complexe enzymatique, la recombinase (endonucléase et ligase) qui reconnaît les signaux de recombinaison héptamère et nonamère, situés en 3' des gènes V, en 5' des segments J, et de part et d'autre des segments D. L'ADN intermédiaire est éliminé par délétion sous forme de boucles d'excision.

Ces recombinaisons de segments génétiques comportent une certaine imprécision dans les nucléotides participant aux jonctions V-J (diversité jonctionnelle des chaînes légères : la coupure n'a pas forcément lieu à la limite du codon terminal de V mais peut être déplacée de 1 ou 2 nucléotides). Ce mécanisme accroît la diversité V-J.

Il existe dans le cas des chaînes lourdes des possibilités d'inversion du gène D ou de recombinaison entre gènes D ou recombinaisons inégales entre deux chromosomes 14. Une enzyme la désoxy-ribonucléotidyl-transferase terminale TdT permet l'insertion des nucléotides aux jonctions VD et DJ avant la liaison, créant ainsi une région de diversité appelée N diversité (N pour nucléotides), aux jonctions VH-D-JH, et ce mécanisme rend compte de la présence de zones hypervariable CDR3 des chaînes lourdes, et des variations de longueur du domaine VH.

Ces recombinaisons somatiques comportent un nombre élevé de réarrangements non fonctionnels conduisant, par exemple, à la formation de codons stop qui arrêtent la transcription.

L'expression d'une chaîne μ fonctionnelle en surface inhibe en « trans » les recombinaisons sur l'autre chromosome 14 et initie les recombinaisons des gènes des chaînes L dans l'ordre $\kappa\lambda$. Le premier réarrangement fonctionnel bloque les suivants. Une cellule B différenciée n'exprime donc qu'un seul gène recombiné VH, D, JH et une seule chaîne légère κ dans deux tiers des cas ou λ dans un tiers des cas.

Des mutations ponctuelles affectent les gènes VH et VL dans les cellules B matures activées ; elles sont mille fois plus fréquentes que dans le reste du génome. Elles se produisent dans les centres germinatifs des tissus lymphoïdes. Si elles portent sur des codons d'acides aminés qui font partie du paratope, elles sont à l'origine d'un changement d'affinité de l'Ac ou d'un changement de spécificité. Ces mutations peuvent en outre modifier la structure des idiotopes, c'est à dire des épitopes du fragment Fv.

Des recombinaisons somatiques des gènes des chaînes lourdes, par appariement des séquences S (switch ou commutation), permettent à une cellule B mature de produire successivement différentes chaînes H, associant le même gène réarrangé VH-D-JH à $\mu\delta$ puis γ ou α ou ϵ . Ceci conduit à la production séquentielle d'Ac ayant la même chaîne légère, le même domaine VH, mais des régions constantes de chaînes lourdes différentes, donc appartenant à des classes et sous classes différentes.

Ce phénomène de commutation des chaînes lourdes est contrôlé par l'action de différentes cytokines et par la mise en jeu de récepteurs de Fc et de la molécule CD40. Une commutation préférentielle d'IgM en IgA1 ou A2 a lieu dans les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (plaque de Peyer), alors qu'une commutation IgM en IgG puis IgG1 a lieu plutôt dans les amygdales et les ganglions, les deux voies étant également utilisées dans d'autres tissus muqueux.

A partir d'un même transcrit $\mu\delta$, un épissage différentiel de l'ARN conduit à 2 types de messagers codant respectivement les IgM et IgD. L'utilisation de deux sites de polyadénylation contrôle la synthèse des formes membranaires ou sécrétées.

L'expression des gènes des chaînes H et L est sous le contrôle d'activateurs de la transcription, les uns communs à différents tissus, d'autres particuliers aux cellules de la lignée B. Des éléments activateurs sont localisés dans l'intron κ entre les segments $J\kappa$ et le gène $C\kappa$ (séquence κB) et à 9kb en 3' de $C\kappa$. Dans le locus IGH, des activateurs ont également été décrits, le premier est situé dans l'intron entre les segments JH et le gène $C\mu$ et le second, en 3' du gène $C\alpha 2$. Ces séquences sont reconnues par des facteurs de transcription nucléaire.

I-4-2b- Réarrangement des gènes du TcR au cours de la différenciation T.

Comme pour les Ig, la synthèse d'une chaîne de TcR fonctionnelle nécessite des recombinaisons de segments génétiques qui ont lieu dans les cellules T, lors de leur maturation intrathymique.

Les réarrangements ont lieu dans un ordre chronologique γ et δ , puis, pour les cellules $\alpha\beta$, β et enfin α . Il est intéressant de noter que les lymphocytes T $\alpha\beta$ ont réarrangé leur deux locus γ , bien qu'aucune chaîne γ ne soit exprimée.

Ces réarrangements γ sont particulièrement utiles pour étudier la clonalité des cellules T dans le cas de leucémies ou de lymphomes.

La région codée par les segments D β et D δ fait l'objet d'une extrême diversité du fait des mécanismes d'inversion ou de duplication des segments D qui peuvent être transcrits dans trois cadres de lecture, et du fait de l'action de la TdT qui crée des régions N aux jonctions V-D-J. Cette région de la chaîne V β ou V δ est celle qui participe à la liaison aux peptides. Contrairement aux gènes des chaînes d'Ig, il n'y a pas de mutation somatique au niveau des gènes des chaînes α, β, γ et δ des récepteurs T.

Les études des thymocytes foetaux murins et des hybrides qui en sont dérivés indiquent que pendant l'ontogenèse des cellules T, les gènes des TcR- δ se réarrangent au jour 14 de la gestation, suivis par les réarrangements des gènes des TcR- γ et TcR- β au cours des jours 14-17.

Chez l'homme dès la 15^e semaine de gestation, des thymocytes TcR- β ⁺ sont détectables. Ces résultats sont compatibles avec un modèle de différenciation t dans lequel les gènes TcR δ se réarrangent d'abord, suivi immédiatement par le réarrangement des gènes TcR- γ . On ne sait pas clairement pour le moment si la voie de différenciation des cellules TcR- $\gamma\delta$ est séparée de la voie de différenciation des cellules TcR- $\alpha\beta$.

Par ailleurs, on ne sait pas non plus si tous les réarrangements du TcR doivent prendre place dans le thymus. Ainsi chez la souris nude et chez l'homme athymique (comme dans le syndrome de Di George), on retrouve des cellules TcR- $\gamma\delta$ ⁺ réarrangées mais pas de cellules TcR- $\alpha\beta$ ⁺.

I-4-3- Similitudes et différences entre les molécules d'Ig et de TcR.

Les structures des molécules d'Ig et de TcR sont apparentées entre elles ainsi qu'aux autres molécules impliquées dans la reconnaissance immunologique spécifique, telles que les molécules du CMH de classe I et II, ainsi que les molécules T accessoires CD4 et CD8. Ces similitudes ne sont pas restreintes à la structure protéique, mais sont aussi retrouvées au niveau de l'organisation des gènes, suggérant une origine commune au cours de l'évolution.

Ces gènes appartiennent à la « super famille des Ig ». Cette super famille consiste en un ensemble de familles multigéniques dont les membres codent pour des chaînes protéiques dont les domaines sont homologues aux domaines des Ig. Ces unités homologues sont composées de 100 à 110 aminoacides avec un pont dissulfure central. Le degré d'homologie entre les 2 séquences d'acides aminés varie de 15 à 40%. L'homologie avec les unités d'Ig est aussi retrouvée pour des molécules qui ne sont apparemment pas directement impliquées dans les réponses immunitaires.

Les familles multigéniques comprennent les gènes des Ig, les gènes du TcR et les gènes du CMH de classe I et II. Les familles à gènes uniques incluent les antigènes de différenciation des cellules T (CD2, CD3, CD4, CD7, CD8 et CD28), les antigènes présents sur les cellules hématopoïétiques (CD58 et MRC OX-45), les récepteurs pour des facteurs de croissance (PDGF, CSF-1). Ainsi, la superfamille des gènes des Ig s'étend-elle largement au-delà du système immunitaire, suggérant que l'unité d'homologie des Ig a joué un rôle central dans les interactions cellulaires au cours de l'évolution.

I-4-4 - Reconnaissance de l'Ag restreinte au CMH.

Une des différences majeures entre les molécules d'Ig et de TcR tient au fait que le TcR ne reconnaît l'antigène dont il est spécifique que lorsque celui-ci est associé avec une molécule du CMH à la surface d'une autre cellule. En revanche, les molécules d'Ig peuvent directement se lier à la fois aux antigènes libres et aux antigènes associés à la membrane. La reconnaissance du complexe antigène-CMH déclenche l'activation des cellules T qui développent alors des activités régulatrices ou cytotoxiques. Cette reconnaissance de l'antigène restreinte au CMH est propre aux cellules T porteuses de récepteurs $\alpha\beta$.

Les molécules membranaires sont identifiées en immunofluorescence au microscope ou en cytométrie de flux à l'aide d'anticorps monoclonaux couplés à un fluorochrome. Leur étude est couramment pratiquée pour connaître la répartition des différentes populations leucocytaires dans le sang (phénotypes lymphocytaires) et pour identifier des cellules activées.

Du fait de leur fonction de signalisation, ces molécules membranaires sont des cibles thérapeutiques pour l'immunointervention à l'aide de ligands artificiels solubles (Ac monoclonaux, molécules de fusion associant la région extramembranaire d'un récepteur avec des domaines de chaînes lourdes d'Ig ou enfin immunotoxines). Ces ligands peuvent servir de moyen de ciblage pour faire pénétrer une molécule active (toxine, antimétabolite) dans les seules cellules exprimant le récepteur correspondant. Ils peuvent être par eux-mêmes des médicaments agonistes ou antagonistes.

Chapitre 2- Organes et tissus lymphoïdes, Circulation des lymphocytes. [37] [38]

II-1- Introduction, généralités.

Le système immunitaire est constitué de différents organes ou compartiments de l'organisme : la moelle osseuse (réservoir des cellules des lignées hématopoïétiques dont font partie les cellules du système immunitaire), la circulation sanguine (qui véhicule ces cellules mais aussi les facteurs du complément et les anticorps), la circulation lymphatique, les organes lymphoïdes (thymus, rate, ganglions, plaques de Peyer, appendice, amygdales et végétations adénoïdes, les formations lymphoïdes associées aux muqueuses : MALT).

Outre ces sites bien compartimentés, le système immunitaire a délégué des représentants dans tout l'organisme. C'est le cas des macrophages, présents dans le cerveau (ce sont les Astrocytes), le foie (les cellules de Kupffer) ou les poumons (les macrophages alvéolaires); des lymphocytes, présents dans les glandes salivaires ; ou des cellules de Langerhans, présentes dans la peau.

II-2- Le Thymus.

Le thymus est l'organe central où se différencient les lymphocytes T à partir de cellules précurseurs, les prothymocytes, dérivés de cellules souches lymphoïdes de la moelle osseuse.

Le thymus est formé de deux lobes entourés d'une fine capsule de tissu conjonctif, chaque lobe étant divisé en lobules par des cloisons conjonctives. La zone superficielle forme le cortex ou zone corticale, divisée en cortex superficiel et profond, tandis que la zone profonde constitue la médullaire ou medulla. [**Figure 6**]

Le thymus se développe à partir des 3^e et 4^e poches pharyngées de l'embryon, dès la 6^e semaine de gestation ; sa colonisation par des cellules hématopoïétiques a lieu vers la 9^e semaine dans l'espèce humaine. Les lymphocytes T matures apparaissent à partir de la 16^e semaine de développement. Une embryopathie affectant les 3^e et 4^e poches pharyngées appelée aplasie thymique congénitale ou syndrome de Di George est caractérisée par l'absence de thymus (déficit immunitaire sévère) et de parathyroïdes (tétanie).

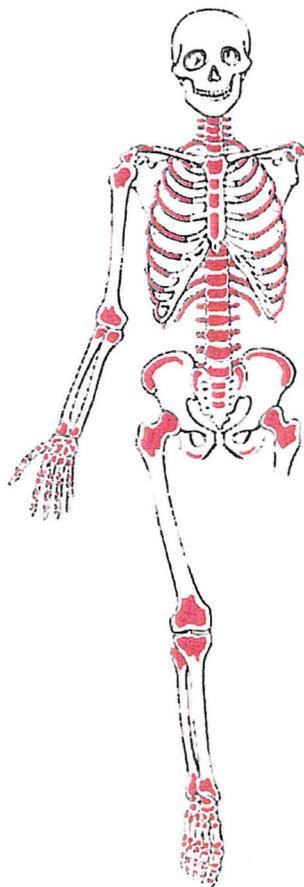
Le thymus augmente de taille jusqu'à la puberté. Chez l'adulte, les thymocytes deviennent de moins en moins nombreux et sont remplacés par du tissu adipeux. L'involution du thymus peut aussi être provoquée accidentellement par différents maladies, l'irradiation ou un déficit nutritionnel.

II-3- La moelle osseuse.

Dans la vie post-natale, l'hématopoïèse normale ne se fait plus que dans la moelle osseuse rouge. Après achèvement de la croissance longitudinale du corps, l'hématopoïèse se limite donc à la moelle osseuse épiphysaire des os longs et des os courts et plats. [**Figure 17**]

Figure 17. Moelle osseuse rouge chez l'adulte.

D'après Rohr *Atlas commenté d'anatomie humaine, Flammarion Médecine-Sciences 2^e édition*



II-4- Les ganglions lymphatiques.

Les ganglions lymphatiques sont des formations lymphoïdes disposées le long des vaisseaux lymphatiques. Ils ont une double fonction d'exclusion des pathogènes (phagocytose par les macrophages) et de site de développement des réponses immunitaires spécifiques. Les ganglions sont entourés d'une capsule fibreuse et divisés par des travées de tissus conjonctif. La lymphe y pénètre par des vaisseaux lymphatiques afférents et s'écoule à travers un réseau de sinus lymphatiques qui se rassemblent au niveau du hile pour former le vaisseau lymphatique efférent. On distingue trois zones concentriques sur une coupe de ganglion : le cortex superficiel, le cortex profond et la médullaire. [**Figure 18**]

II-4a- Cortex superficiel.

Les lymphocytes corticaux s'organisent en nodules ou follicules : follicules primaires de densité cellulaire uniforme, et follicules secondaires contenant les centres germinatifs qui apparaissent après stimulation antigénique. [**Figure 19**]

Ces centres germinatifs comportent une zone sombre où prédominent les centroblastes et une zone claire constituée essentiellement de centrocytes. Dans cette zone se trouvent des macrophages qui phagocytent les débris cellulaires et des cellules dendritiques folliculaires dont la fonction est de présenter les Ag aux lymphocytes B. Le centre germinatif est entouré d'un manteau (plus sombre) où prédominent les petits lymphocytes B (dont certains expriment la molécule CD5) associés à quelques lymphocytes T.

Les centres germinatifs sont la zone de différenciation secondaire des lymphocytes B activés par l'Ag. Ils sont le siège d'une intense prolifération cellulaire (centroblastes de la zone sombre), d'une commutation de classes d'Ig et de mutations somatiques des gènes VH et VL . Chaque centre germinatif est formé à partir d'une seule cellule B (ou d'un tout petit nombre).

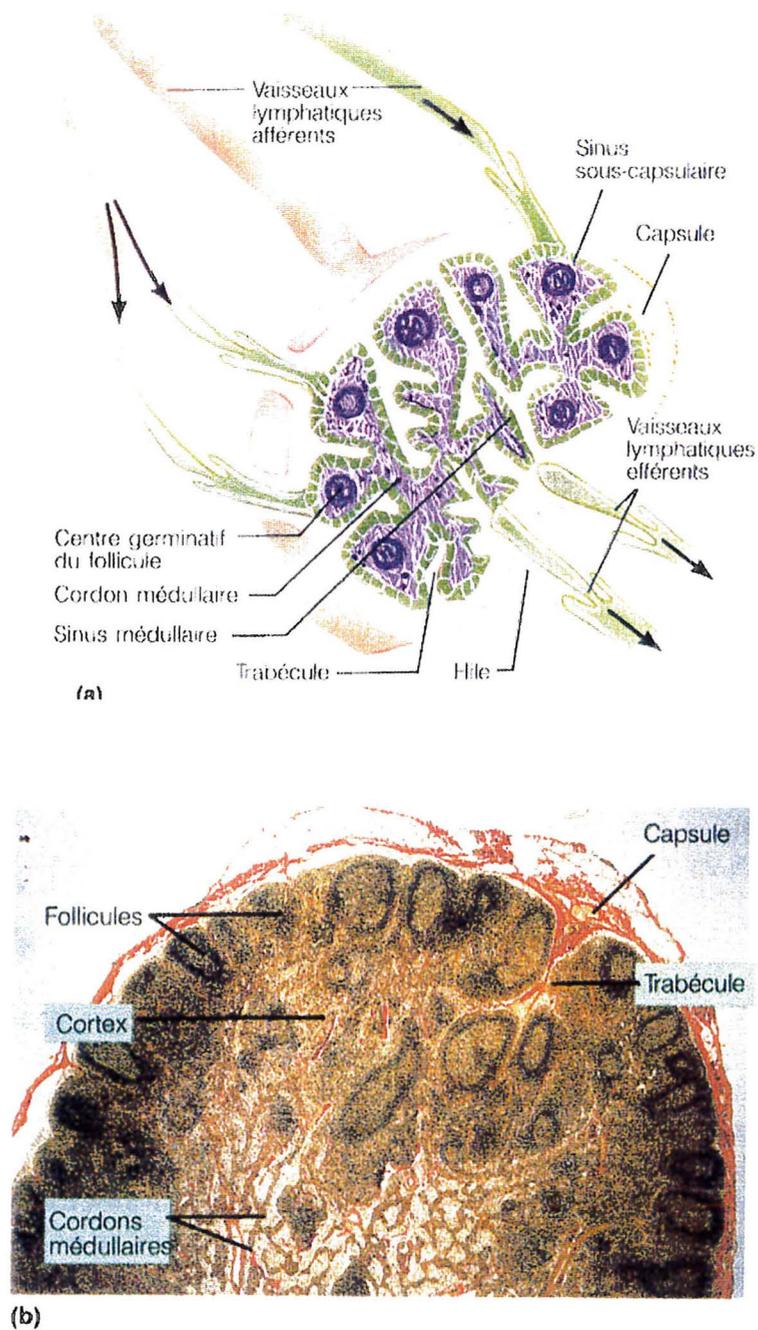
Les cellules B sélectionnées par l'Ag présenté par les cellules dendritiques folliculaires, se différencient au sein de la zone claire (centrocytes) soit en cellules B à mémoire (petits lymphocytes), soit en plasmocytes qui migrent vers la médullaire, puis vers la moelle osseuse où se termine leur différenciation. Les cellules B non sélectionnées par l'antigène meurent par apoptose et sont phagocytées par les macrophages où les débris nucléaires forment les corps tingibles.

II- 4b- Cortex profond.

Le cortex profond ou zone paracorticale ou zone T-dépendante est constituée principalement de cellules T et de cellules interdigitées, cellules dendritiques qui dérivent des cellules dendritiques tissulaires ou des cellules de Langerhans de l'épiderme ayant migré dans le derme (cellules indéterminées, dendrocytes) puis par le lymphatique afférent (cellules voilées). On trouve en outre dans le cortex profond des veinules post capillaires à cellules endothéliales cubiques à travers lesquelles les lymphocytes migrent de la circulation sanguine vers le cortex profond.

Cette zone paracorticale est le site d'induction des réponses cellulaires T et de présentation de l'antigène par les cellules interdigitées. De plus, elle est le siège de la réponse primaire, T- dépendante, des lymphocytes B.

Figure 18. Structure du ganglion Lymphatique.



Structure d'un ganglion lymphatique. (a) Coupe longitudinale d'un ganglion lymphatique et des vaisseaux lymphatiques associés. Notez que les vaisseaux lymphatiques efférents qui sortent du ganglion au hile sont moins nombreux que les vaisseaux lymphatiques afférents qui pénètrent dans le ganglion du côté convexe. Les flèches indiquent le sens de l'écoulement de la lymphe. (b) Photomicrographie d'une partie d'un ganglion lymphatique ($\times 20$).

Figure 19. Formation et structure des centres germinatifs.

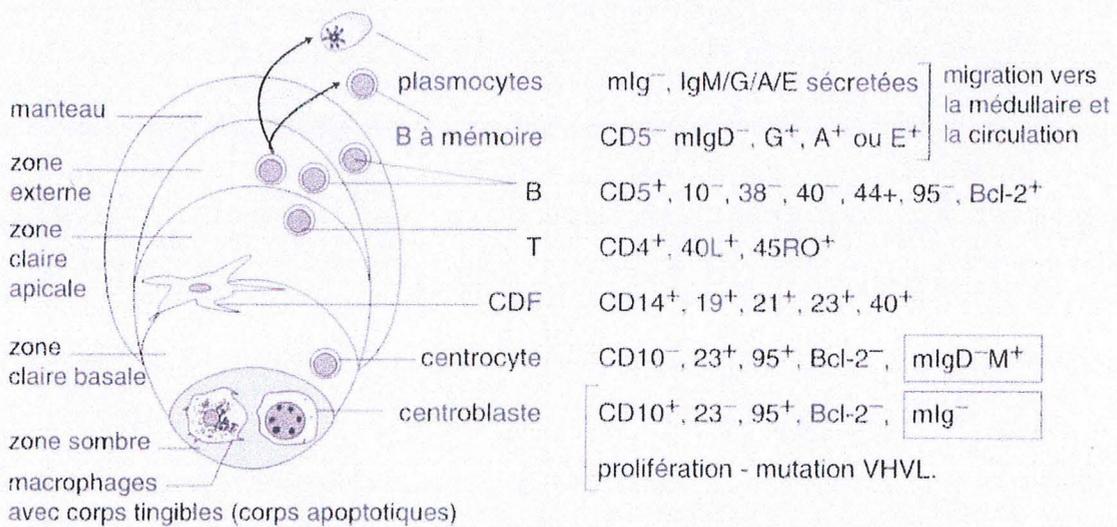


Schéma d'un centre germinatif avec les principales caractéristiques phénotypiques des différents types cellulaires. Le centre germinatif formé à partir de 1 à 10 lymphocytes B activés, est un site d'intense prolifération ($\times 10^4$ en 3 à 4 jours).

Elle est hypertrophiée pendant les 6 à 8 jours qui suivent l'introduction d'un Ag dans le territoire drainé par le ganglion. Elle est rendue aplasique par la thymectomie, le drainage du canal thoracique ou l'administration d'Ac antilymphocytes.

II- 4c- Medullaire.

La medullaire est formée de cordons séparant les sinus lymphatiques. Elle contient surtout des macrophages et des plasmocytes.
Le pédicule du ganglion au niveau du hile est constitué par le lymphatique efférent, l'artère et la veine.

II-5- La rate.

La rate est un organe lymphoïde situé en dérivation sur la circulation sanguine. La pulpe rouge est formée de sinus veineux aux parois discontinues. C'est un site de destruction des hématies sénescents et un réservoir d'hématies susceptibles d'être injectées dans la circulation sanguine par contraction de la rate.
La pulpe blanche ou zone lymphoïde est constituée de manchons lymphoïdes périarteriolaires entourés d'une zone marginale riche en macrophages et en lymphocytes B à mémoire provenant du centre germinatif adjacent. Autour des artérioles on trouve une zone centrale riche en cellules T et une zone plus périphérique riche en cellules B organisées sous forme de follicules primaires et secondaires dont la structure est comparable à celle des ganglions. Les lymphocytes formés au sein de la pulpe blanche migrent vers la pulpe rouge et la circulation sanguine.
La rate joue le rôle de filtre éliminant les microorganismes de la circulation sanguine. C'est en outre un site de développement de la réponse Ac, particulièrement vis-à-vis des Ag polysaccharidiques (bactéries) pénétrant par voie sanguine et fixés à la surface des cellules dendritiques folliculaires de la zone périphérique.

II-6- Le tissu lymphoïde associé aux muqueuses.

Le tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT) est formé d'une part, d'un tissu lymphoïde diffus dans le tissu conjonctif sous-épithélial (ex : Lamina propria de l'intestin) et d'autre part, de formations lymphoïdes organisées qui sont des sites d'induction de la réponse immunitaire vis à vis d'Ag pénétrant par voie muqueuse à travers l'épithélium. Par exemple, le tissu lymphoïde associé à l'intestin constitue le GALT (gut associated lymphoid tissue) et comporte les plaques de Peyer [**Figure 20**] au niveau du grêle. Des formations équivalentes existent dans le gros intestin, le rectum et le carrefour aérodigestif.

L'anneau de Waldeyer est un ensemble de formation lymphoïdes diffuses ou structurées entourant le carrefour aérodigestif : amygdales linguales, pharyngées et palatines, végétations adénoïdes. Les Ag particuliers pénétrant dans les fosses nasales ou la cavité buccale sont retenus dans les cryptes des amygdales au fond desquelles se trouvent des cellules fongiformes assurant le passage de ces Ag dans le tissu conjonctif. Celui-ci est occupé par des formations lymphoïdes dont la structure rappelle celle des ganglions lymphatiques, mais qui ne possèdent pas de vaisseaux lymphatiques afférents. Les zones B sont formées de quelques follicules primaires et surtout de follicules secondaires séparés les uns des autres par des zones T dépendantes.

Les plaques de Peyer, au nombre de 2 à 300 s'échelonnent du duodénum à l'iléon. Elles sont recouvertes d'un dôme de cellules épithéliales au sein desquelles on trouve des cellules M (microfold) qui assurent le transport des antigènes non dégradés vers la plaque de Peyer, elle-même formée de tissu lymphoïde avec des zones B (follicules primaires et secondaires) séparées par des zones T-dépendantes. La présentation de l'Ag aux lymphocytes T CD4+ ou CD8+ est assurée par des cellules interdigitées. [**Figure 21**]

Les plaques de Peyer n'ont pas de lymphatiques afférents mais elles sont riches en veinules post capillaires assurant le transfert des lymphocytes du sang vers le tissu lymphoïde.

En dehors des plaques de Peyer, le tube digestif contient de très nombreux nodules lymphoïdes, au contact de l'épithélium. Le colon et l'ampoule rectale possèdent des formations lymphoïdes analogues aux plaques de Peyer, de même que l'appendice.

Les lymphocytes T et B formés au sein des plaques de Peyer migrent vers les ganglions mésentériques puis par la circulation lymphatique et sanguine, viennent se localiser dans la paroi intestinale au niveau de la lamina propria, mais aussi dans d'autres territoires muqueux et glandulaires tels que les glandes lacrymales, salivaires et bronchiques, la glande mammaire, les voies biliaires et le gros intestin.

La lamina propria est le site de différenciation terminale des plasmocytes originaires des plaques de Peyer. Ces plasmocytes sécrètent, pour la plupart d'entre eux, des IgA dimériques qui vont être transportées par la cellule épithéliale vers la lumière intestinale et libérées sous forme d'IgA sécrétoires. On trouve en outre des lymphocytes T pour la plupart CD4+, des macrophages et des mastocytes.

Au sein de l'épithélium, se trouvent des lymphocytes intra-épithéliaux (IEL :intra epithelial lymphocytes) pour la plupart CD8+ avec une proportion de lymphocytes T à TcR $\gamma\delta$ plus élevée que dans le sang.

Le tissu lymphoïde associé aux bronches (BALT) ne comporte pas de formations lymphoïdes structurées comme les plaques de Peyer mais seulement des amas lymphoïdes dans le tissu conjonctif sous-épithélial. Les cellules dendritiques de l'épithélium fonctionnent comme cellules transporteuses d'Ag, en migrant vers les ganglions lymphatiques trachéobronchiques et paratrachéaux.

Figure 20. Structure des plaques de Peyer.

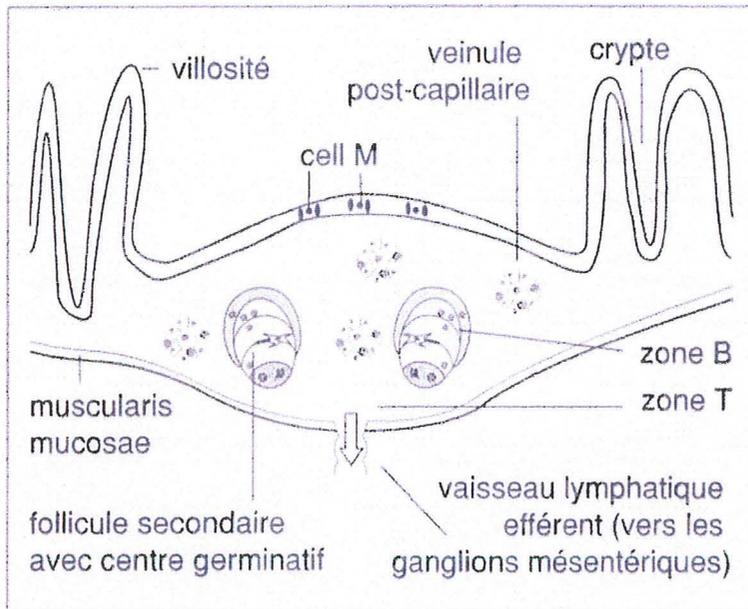
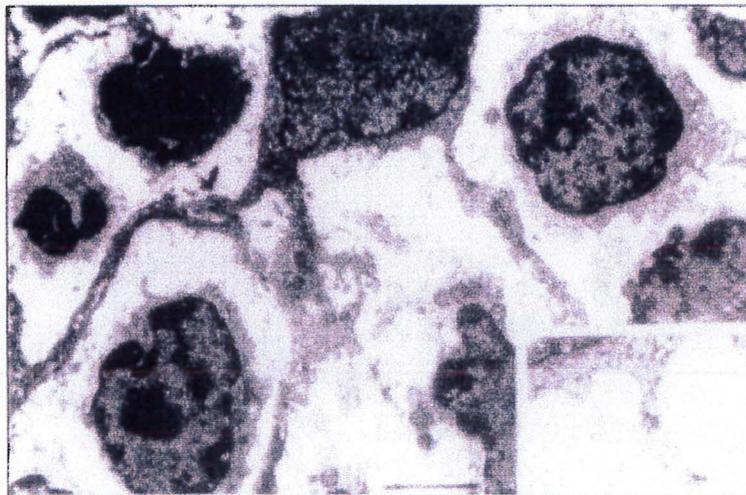


Figure 21. Ultrastructure d'une cellule interdigitée des Plaques de Peyer.

Document K.Vidal, M.Mutin, D.Kaiserlian, J.P.Revillard, INSERM U.80, Lyon.



Les très longs prolongements dendritiques de cette cellule, riches en molécules HLA-DR, permettent le passage à son contact d'un grand nombre de lymphocytes T CD4+ venant de la circulation sanguine à travers l'endothélium des veinules post capillaires. Seuls les lymphocytes dont le TcR interagit avec le peptide associé à la molécule HLA-DR sont activés et prolifèrent.

II- 7- Circulation des lymphocytes.

La plupart des lymphocytes du sang ne font qu'un bref séjour dans le compartiment intravasculaire et gagnent les ganglions en traversant l'endothélium des veinules post-capillaires. De là, ils migrent par les vaisseaux lymphatiques le long de chaque chaîne ganglionnaire pour se rassembler dans le canal thoracique (et la grande veine lymphatique) et passer dans la circulation sanguine.

Les expériences de canulation du canal thoracique chez l'animal permettent d'épuiser les populations de lymphocytes circulants à longue durée de vie, ce qui se traduit par une diminution du débit de lymphocytes dans le canal thoracique et une lymphopénie. Les petits lymphocytes, qui constituent la majorité des lymphocytes de la lymphe à l'état normal sont alors remplacés par des cellules nouvellement formées au sein des ganglions. L'injection intraveineuse de cellules de la lymphe, marquées, permet d'observer leur passage dans la lymphe du canal thoracique.

L'injection de cellules ganglionnaires marquées a permis de montrer une localisation préférentielle des cellules des ganglions mésentériques dans le territoire intestinal, et des cellules des ganglions périphériques (axillaires et inguinaux) dans ces mêmes ganglions. Ce phénomène d'écotaxie sélective correspond à une relative spécificité tissulaire des molécules (sélectines et intégrines) permettant le passage des lymphocytes à travers l'endothélium des veinules post-capillaires. Les modifications de l'endothélium induites par des cytokines expliquent l'augmentation du transit transcapillaire des lymphocytes dans les ganglions stimulés et dans les tissus sièges d'une réaction inflammatoire.

Le débit cellulaire du canal thoracique chez l'homme adulte est de $2 \text{ à } 5 \cdot 10^5$ lymphocytes/24 heures, ce qui indique que la durée de séjour de la plupart des lymphocytes dans le sang est de l'ordre de quelques heures. Cette circulation des lymphocytes explique que l'irradiation locale répétée du sang ou d'une chaîne ganglionnaire induise une lymphopénie durable.

Sur 10 lymphocytes qui pénètrent dans le ganglion par voie sanguine, 9 ressortent par la veine et 1 par le lymphatique efférent. Lorsque le ganglion est activé par injection d'Ag dans le territoire drainé (ex : vaccin), le passage hémolympatique augmente de 1 à 4 pendant les premiers jours et le flux de lymphocytes dans le lymphatique efférent diminue, ce qui provoque l'hypertrophie du ganglion.

Cette circulation répond à une fonction immunologique essentielle. En effet les lymphocytes T reconnaissent l'Ag par un récepteur inséré dans leur membrane et ils doivent donc venir au contact des cellules présentant l'Ag. Comme chaque TcR n'interagit qu'avec un seul peptide associé à une molécule du CMH et que chaque lymphocyte T n'exprime en général qu'une espèce moléculaire de TcR, c'est environ 1 lymphocyte T sur 10^4 - 10^6 qui peut reconnaître un peptide particulier. Lors de l'immunisation par l'Ag correspondant, il faut donc que ce lymphocyte T ait la possibilité d'interagir avec cet Ag présenté sous forme de peptide sur la membrane d'une cellule interdigitée au sein d'un ganglion.

II-8- Innervation des tissus lymphoïdes.

Les organes lymphoïdes centraux et périphériques ont une abondante innervation par le système nerveux autonome. On distingue d'une part, des fibres sympathiques post-ganglionnaire noradrénergiques et d'autre part, des fibres contenant différents neuropeptides : la substance P, le peptide intestinal vasoactif (VIP), la somatostatine, le neuropeptide Y, le peptide lié au gène de la calcitonine, la cholécystokinine et d'autres peptides. Les fibres nerveuses pénètrent par les gaines conjonctives périvasculaires et leurs terminaisons sont en contact direct avec les lymphocytes, les macrophages et les mastocytes, réalisant avec ces cellules une interaction de type synaptique ou bien permettant une diffusion du médiateur selon le mode paracrine.

Ces fibres se terminent, pour la plupart dans les zones T-dépendantes des organes lymphoïdes périphériques. L'innervation des follicules est moins abondante. Dans l'intestin, on observe de très nombreuses fibres dans la lamina propria ; certaines se terminent par une jonction synaptique au niveau des lymphocytes et des mastocytes, d'autres au contact des cellules entérochromaffines.

Les lymphocytes T et B, les mastocytes et les macrophages possèdent des récepteurs β -adrénergiques et des récepteurs de neuropeptides. Toutes les conditions sont donc réunies pour permettre un contrôle des cellules du système immunitaire par le système nerveux autonome. In vitro, la noradrénaline et les agonistes β adrénergiques, le VIP et d'autres peptides modifient les réponses des lymphocytes T et B à différents stimulus et agissent sur certains signaux d'activation, de prolifération ou de différenciation. In vivo la sympathectomie modifie les réponses T-dépendantes chez l'animal. Aux interactions directes entre les terminaisons des nerfs sympathiques et les cellules immunitaires, s'ajoutent les interactions neuroendocriniennes, avec principalement l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien dont le principal médiateur est le cortisol.

Chapitre 3- Classification histopathologique immunologique, cytogénétique et moléculaire des lymphomes malins non Hodgkiniens.

[1] [4] [6] [7] [17] [27] [28] [29] [31] [32] [33] [79] [88] [95] [102] [112]
[115]

III- 1- Introduction, généralités.

Les néoplasies malignes du tissu lymphoïde ou lymphomes malins se développent à partir d'éléments cellulaires constituant le tissu lymphoïde normal. L'essor des techniques immunohistochimiques, le développement des anticorps monoclonaux et de la biologie moléculaire ont abouti à de profonds remaniements dans la conception histogénétique et la classification de ces tumeurs. Les progrès dans la classification des lymphomes malins ne peuvent désormais qu'être le fruit d'une coopération étroite entre cliniciens, hématopathologistes, biologistes moléculaires et virologistes.

Les classifications anciennes qui distinguaient des lymphosarcomes, des lymphoréticulosarcomes, des sarcomes lymphoblastiques ou lymphocytiques, n'ont pas résisté aux progrès dans la connaissance de la physiologie du système lymphoïde et à l'individualisation des populations des cellules T et B.

Actuellement, l'ontogénie des cellules lymphoïdes et les diverses étapes de leur différenciation sont bien caractérisées. A la suite d'un blocage, chacune des cellules jalonnant la transformation des lymphocytes B et T peut donner naissance à un lymphome qui conserve la majorité des attributs immunologiques (CD) et morphologiques des cellules normales dont il dérive.

Sur ces faits, dès 1982 sous l'impulsion du NCI (National Cancer Institute), une étude évalue l'intérêt clinique et donc pronostique des classifications existantes et aboutit à la « working formulation » (WF). La WF a été largement utilisée car la division en tumeurs de bas degré de malignité, de malignité intermédiaire et de haut degré de malignité simplifiait les choix thérapeutiques. Cependant, la WF ne prend pas en compte les progrès considérables réalisés en immunologie, grâce aux anticorps monoclonaux et en biologie moléculaire grâce au développement de la PCR (*polymerase chain reaction*). La WF n'est pas basée sur l'existence d'entités définies sur des critères à la fois morphologiques, cliniques, immunologiques et de génétique moléculaire. Elle se contente de regrouper des tumeurs avec des survies apparemment identiques et dont les cellules ont la même taille mais sont de phénotypes souvent très différents. A l'inverse, elle sépare des entités que les hématopathologistes ne sont pas toujours capables de différencier, notamment dans le groupe des lymphomes B à grandes cellules. Il devenait donc indispensable d'intégrer l'ensemble des progrès conceptuels et techniques réalisés dans la connaissance des proliférations lymphoïdes et de mettre en place un langage commun qui prend en compte cette exigence multidisciplinaire et qui seul pouvait aboutir à la définition de véritables entités. Cette situation conduit l'International Lymphoma Study Group à proposer une nouvelle classification, basée sur la notion d'entités définies sur des critères morphologiques, cliniques, immunologiques et de génétique moléculaire : « La REAL classification » (Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasm).^[33]

III- 2- REAL classification. Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasm [29]

La REAL classification reconnaît trois grands types de tumeurs : les lymphomes B (Tableau I), les lymphomes T (Tableau II) et à part, la maladie de Hodgkin. Par ailleurs, les lymphomes B et T sont divisés en tumeurs développées à partir des cellules lymphoïdes immatures (précurseurs lymphoïdes) : ce sont les lymphomes lymphoblastiques (B ou T) et tumeurs développées à partir de cellules B ou T de phénotype périphérique. Cette classification reconnaît de nouvelles entités telles que les « lymphomes du manteau » et les lymphomes de la zone marginale (notamment les lymphomes de type MALT -mucosa associated lymphoid tissue-).

Dans les lymphomes de type B, la REAL classification regroupe sous la dénomination de lymphomes B diffus à grandes cellules diverses variétés cytologiques de lymphomes qui étaient individualisés dans les classifications antérieures. Dans les lymphomes T, cette classification fait également apparaître de nouvelles entités telles que les lymphomes T/NK « de type nasal ». L'importance diagnostique et pathogénique de certaines translocations, notamment t(14;18), t(11;14), t(2;5), s'accompagnant parfois d'une expression anormale de certaines protéines, bcl-2, cycline D, protéine hybride NPM/ALK, est également prise en compte. Enfin, cette classification souligne le rôle de virus, tels que le virus d'Epstein-Barr, le HTLV1 (human T cell lymphoma virus) et le HHV8 (human herpes virus) dans la survenue de certains lymphomes.

Enfin, comme dans toutes les classifications, il est prévu des lésions inclassables (lésions particulières, cas frontières ou prélèvements de mauvaise qualité technique). Une notion importante dans cette classification est la notion de grade et d'agressivité. La notion de grade fait référence à des paramètres histologiques tels que la taille des cellules, la densité de la chromatine et le pourcentage de cellules en cycle. Les termes de groupes pronostiques et d'agressivité font référence au comportement clinique, connu ou simplement supposé, de ces tumeurs. Ces notions de grade et d'agressivité sont importantes pour les cliniciens car il apparaît maintenant que chaque variété de lymphome a un spectre de grade et d'agressivité. L'exemple le plus classique étant celui des lymphomes folliculaires mais aussi des lymphomes du manteau ou de type MALT. Chacun de ces lymphomes peut se présenter sous une forme indolente ou au contraire agressive et il est difficile de séparer ces formes en bas et haut degré de malignité.

Tableau I . Lymphomes B : entités reconnues dans la REAL classification

<p>Tumeurs développées à partir des précurseurs B</p> <p>Lymphome/ Leucémie lymphoblastique</p> <p>Tumeurs développées à partir des lymphocytes périphériques B</p> <p>Leucémie lymphoïde chronique Leucémie prolymphocytaire Lymphome lymphocytaire</p> <p>Lymphome lymphoplasmocytaire immunocytome</p> <p>Lymphome des cellules du manteau</p> <p>Lymphome folliculaire - Grade I Prédominance de centroblastes - Grade II</p> <p>Lymphome centrofolliculaire diffus</p> <p>Lymphome de la zone marginale de type MALT</p> <p>Lymphome splénique de la zone marginale (lymphocytes villeux +/-)</p> <p>Lymphome ganglionnaire de la zone marginale (catégorie provisoire)</p> <p>Leucémie à tricholeucocytes</p> <p>Plasmocytome/ Myélome multiple</p> <p>Lymphomes B à grandes cellules</p> <p>Lymphome B médiastinal</p> <p>Lymphome de Burkitt</p>
--

Tableau II . Lymphomes T : entités reconnues dans la REAL classification

<p>Tumeurs développées à partir des précurseurs T</p> <p>Lymphome/ Leucémie lymphoblastique T</p> <p>Tumeurs développées à partir des lymphocytes périphériques T</p> <p>Leucémie lymphoïde chronique Leucémie prolymphocytaire Leucémie à grands lymphocytes granuleux - de phénotype T - de phénotype NK</p> <p>Mycosis fongoïde/ syndrome de Sézary</p> <p>Lymphome T périphérique (sans spécification)</p> <p>Panniculite sous-cutanée lymphomateuse</p> <p>Lymphadénopathie angio-immunoblastique</p> <p>Lymphome NK/T nasal et de type nasal (angiocentrique)</p> <p>Lymphome T intestinal</p> <p>Lymphome/ Leucémie de l'adulte</p> <p>Lymphome anaplasique à grandes cellules de phénotype T ou nul</p>
--

III-2-1- Bases immunologiques de la REAL classification.

Grâce aux anticorps monoclonaux, des techniques immunologiques ont permis d'identifier des molécules membranaires ou cytoplasmiques exprimées par les cellules hématopoïétiques. Ces molécules sont les cluster of différentiation « CD » préalablement définies.

Ainsi, les antigènes ou molécules CD19, 20, 22, 79a sont associées aux lymphocytes B, alors que les antigènes CD2, 3, 4, 7, 8 sont l'apanage des lymphocytes T. Parallèlement à l'apparition de ces antigènes, on sait que les lymphocytes T et B subissent des modifications génotypiques correspondant au réarrangement des gènes codant les immunoglobulines (Ig) et les récepteurs α/β ou γ/β . Quel que soit leur phénotype B ou T, les cellules lymphoïdes engagées dans un cycle mitotique expriment l'antigène Ki-67. Cet antigène, actuellement détectable sur des tissus fixés et inclus en paraffine, est très utile pour apprécier le grade des lymphomes malins en fonction du pourcentage de cellules en cycle (fraction en prolifération). (Tableau III)

III-2-2- Bases moléculaires de la REAL classification.

III-2-2a- Techniques.

Deux méthodes sont actuellement disponibles pour l'analyse des réarrangements des gènes codant les récepteurs des lymphocytes et la détection des translocations chromosomiques :

- La technique de Southern blot, avec des sondes ADN qui s'hybrident sur des segments spécifiques d'un réarrangement ou d'une translocation chromosomique donnée.
- La technique d'amplification génique ou PCR avec des amorces spécifiques de segments réarrangés ou transloqués.

La technique de Southern blot a plusieurs inconvénients ; sa longueur de réalisation, son coût, l'utilisation de radio isotopes pour l'hybridation et la nécessité de disposer d'ADN en grande quantité et de bonne qualité quant à sa taille. Son utilisation en routine est donc souvent difficile. Toutes ces raisons expliquent que l'amplification génique par PCR ait supplanté le Southern blot pour la recherche d'une clonalité, la détermination de l'origine lymphocytaire B ou T des proliférations lymphoïdes et l'étude des translocations chromosomiques en pathologie hémolympatique.

La PCR est une technique plus sensible, sa réalisation ne demande que quelques jours, elle est beaucoup moins onéreuse et l'ADN matrice peut être extraite de prélèvements fixés et inclus en paraffine, ce qui permet des études rétrospectives sur du matériel archivé. Le principe de la PCR avec amorces consensus réside dans l'utilisation d'un couple d'amorces qui va encadrer la zone jonctionnelle V(D)J hypervariable des gènes des récepteurs des cellules lymphoïdes et permettre son amplification. Ces amorces polyvalentes, ou consensus, peuvent être utilisées pour amplifier la zone jonctionnelle V(D)J quels que soient les segments V et J impliqués dans cette recombinaison.

Généralités sur les Lymphomes non Hodgkiniens (LNH)
Thérapeutiques classiques et perspectives d'Immunothérapie

Tableau III. Marqueurs immunologiques et leur correspondance CD pouvant être utilisés pour l'étude des cellules lymphoïdes B et T, ainsi que leurs principales fonctions remarquables.

Précurseurs des cellules lymphoïdes	
CD34	non spécifique car reconnaît aussi les précurseurs myéloïdes
TdT	présent dans le noyau des cellules lymphoïdes immatures <i>enzyme terminale desoxynucléotidyltransférase</i>
Marqueurs des cellules B	
CD1	non spécifique marqueur des thymocytes corticaux T et présent sur une sous population B
CD9	précurseur B mais également présent sur d'autres lignées
CD10	précurseur B et sous population des thymocytes corticaux <i>antigène CALLA</i>
CD19	précurseur B et B matures <u>Pan B</u> (présent sur tous les stades de différenciation)
CD20	cellules B matures
CD21	cellules B matures
CD24	cellules B matures et autres lignées
CD22	<u>Pan B</u>
CD23	cellules B activées
CD25	cellules B activées <i>récepteur IL2</i>
CD37	cellules B sauf les plasmocytes
CD38, CD79a	plasmocyte mais ne possède aucun des marqueurs B
FMC7	
B-Ly	
Ig	la chaîne lourde s'exprime et est détectée dans le cytoplasme dès le stade pré-B les cellules B matures expriment à leur surface les sIg et donc les chaînes lourdes et légères le plasmocyte exprime les chaînes lourdes et légères d'Ig dans son cytoplasme
Marqueurs des cellules T	
CD1	thymocytes corticaux et sous population de cellules B
CD2	<u>Pan T</u> (présent sur tous les stades de différenciation) <i>écepteur des érythrocytes de mouton</i>
CD3	cellules T matures <i>associé au TcR formation d'un complexe protéique (TcR-CD3), rôle dans l'ancrage du TcR et dans la transduction des signaux du TcR vers les composants intracellulaires</i>
CyCD3	l'expression cytoplasmique de l'antigène CD3 caractéristique des cellules T immatures
CD4	cellules T auxiliaires et sous population de thymocytes
CD5	<u>Pan T</u>
CD6	<u>Pan T</u>
CD7	tous les thymocytes et les cellules T circulantes, le prothymocyte
CD8	cellules T cytotoxiques/suppressives, sous population de cellules NK, sous population de thymocytes
CD16	cellules NK <i>récepteur Fc de faible affinité pour les IgG</i>
CD29	sous population de cellules T matures CD4+ inductrices des cellules auxiliaires
CD45RA	sous population de cellules T matures CD4+ inductrices de cellules suppressives
CD45RO	<u>Pan T</u>
CD25	cellules T activées <i>récepteur de IL2</i>
CD38	cellules T activées
CD71	cellules T activées et il semblerait sur toutes les cellules en prolifération <i>récepteur transferrine</i>
CD56	cellules NK et quelques cellules T
CD57	sous population de cellules NK
TcR- $\alpha\beta$	exprimé sur la majorité des lymphocytes T
TcR- $\gamma\delta$	présent sur une minorité de cellules T CD3+
Marqueurs non restreints à une lignée de différenciation	
antigène HLA-DR	présent sur des cellules aux stades précoces de l'hématopoïèse mais aussi sur les Lym B et T activés
CD25	cellules T et B activées
CD38, CD71	présents sur toutes les cellules en prolifération et activées
CD11a/CD18	<i>antigène LFA-1 ou leukocyte function antigen-1</i>
CD11b/CD18	<i>récepteur de type 3 du complément</i>

Une approche identique est aussi appliquée pour la zone jonctionnelle issue de translocations chromosomiques t(14 ;18)(q32 ;q21) et t(11 ;14)(q13 ;q32).

Ainsi, l'amplification de la zone jonctionnelle d'une population lymphoïde clonale donne une bande unique après migration de l'ADN amplifié sur gel d'agarose ou de polyacrylamide car toutes les cellules issues d'un même clone ont la même zone jonctionnelle. A l'inverse, l'analyse en PCR des réarrangements des gènes d'une population lymphoïde polyclonale donne une traînée ou de multiples bandes dites en barreau d'échelle en raison de l'hétérogénéité de taille des zones jonctionnelles amplifiées correspondant aux différentes cellules lymphoïdes présentes dans cette population.

De plus, cette zone jonctionnelle, par sa séquence unique, peut aussi être utilisée comme marqueur spécifique d'un clone néoplasique pour suivre un malade en cours ou après traitement. Dans ce cas, la méthode la plus fréquemment utilisée est le séquençage de la zone jonctionnelle propre au clone néoplasique, lors du diagnostic et la synthèse d'une sonde oligonucléotidique spécifique de cette séquence. Cette sonde d'ADN pourra ensuite être utilisée pour rechercher une maladie résiduelle, une dissémination ou la détection précoce d'une rechute impliquant le même clone tumoral.

III-2-2b- Données générales sur le réarrangement des gènes codant les récepteurs aux Ag.

Le diagnostic des lymphomes est établi dans 90% des cas sur l'examen morphologique standard associé à une étude immunohistochimique. Mais, dans approximativement 10% des cas, les caractéristiques immunomorphologiques de la prolifération (aspect inhabituel, absence de marqueur de clonalité) rendent le diagnostic différentiel entre lymphome malin et prolifération lymphoïde réactionnelle bénigne difficile. Compte tenu des implications pronostiques et thérapeutiques, il est alors nécessaire d'avoir recours aux techniques de biologie moléculaire.

Qu'ils soient normaux ou néoplasiques, les lymphocytes expriment à leur surface des récepteurs aux antigènes. Ces récepteurs sont codés par des gènes qui subissent des réarrangements dont la finalité est la synthèse d'un récepteur spécifique. Les gènes qui codent ces récepteurs sont composés en configuration germinale de deux ou trois groupes de segments de gènes, appelés V (variable), J (jonction) et D (diversité). En vue de la réponse immunitaire, les gènes V et J ou V, D et J, pris au hasard, vont être juxtaposés avec excision de l'ADN intermédiaire. La zone jonctionnelle ainsi formée (VDJ) code la partie variable des récepteurs.

L'hypervariabilité de la zone jonctionnelle est générée d'une part, par les nombreuses possibilités de recombinaisons (diversité combinatoire) entre les multiples segments V, D et J d'un locus donné et d'autre part, par des additions de nucléotides entre les segments réarrangés lors de leur recombinaison VJ ou VDJ par la TdT (formation de la région N). La zone jonctionnelle (VNJ ou VNDNJ) ainsi formée est considérée par sa taille et sa séquence comme un marqueur spécifique de la clonalité des cellules lymphoïdes. Il s'agit en quelque sorte de la carte d'identité d'un clone de lymphocytes donnés.

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

On connaît de plus en plus de translocations chromosomiques récurrentes, propres à certaines proliférations lymphomateuses malignes, qui impliquent les gènes des récepteurs des cellules lymphoïdes. Dans ces translocations, un gène important dans le contrôle de la prolifération cellulaire normale (proto-oncogène) est dérégulé (oncogène) avec pour conséquence une perturbation de la synthèse de la protéine produite (oncoprotéine). Les anomalies chromosomiques les plus étudiées en pathologie hémolymphatique sont au nombre de quatre :

-t (14 ;18)(q32 ;q21) impliquant le proto-oncogène bcl-2 : fréquente dans les lymphomes B folliculaires.

-t (11 ;14)(q13 ;q32) impliquant le proto-oncogène bcl-1/PRAD1/cycline D1 : fréquente dans les lymphomes B du manteau.

-t (8 ;14)(q24 ;q21) impliquant le proto-oncogène c-myc (homologue de l'oncogène v-myc du virus MC29 de la myélocytomatose aviaire) : spécifique du lymphome de Burkitt.

-t (3 ;14)(q27 ;q32) impliquant le proto-oncogène bcl-6 ou LAZ3 : décrite dans les lymphomes B diffus à grandes cellules.

Ces translocations impliquent en premier lieu les gènes des chaînes lourdes des Ig sur le chromosome 14 et elles génèrent des zones jonctionnelles (entre les deux chromosomes transloqués) qui peuvent également être utilisées comme marqueur de clonalité, ainsi que pour identifier le type de lymphome.

III-3- Lymphomes B.

III-3-1- Lymphomes lymphoblastiques B développés à partir des précurseurs.

III-3-1a- Clinique.

Autrefois appelées « ni T ni B » puis B-précurseurs, ces tumeurs sont plus fréquentes chez l'enfant que chez l'adulte, elles se distinguent chez l'enfant par un aspect histologique toujours diffus et un grade de malignité supérieur à celui de l'adulte. Leur présentation clinique est souvent polymorphe et habituellement extra ganglionnaire, il existe le plus souvent une infiltration de la moelle et du sang, mais quelques cas peuvent se présenter sous forme de tumeurs solides localisées (jusqu'à 20% des cas). Cette affection rejoint les deux autres grands types histologiques que l'on retrouve chez l'enfant. C'est à dire les lymphomes de Burkitt et les lymphomes à grandes cellules sans oublier les lymphomes lymphoblastiques T. Cette affection, bien qu'agressive, peut être curable et en particulier chez les enfants. Il semble cependant que les cas associés à la translocation t(1 ;19) ou t(9 ;22) aient un plus mauvais pronostic.

III-3-1b- Histologie de la biopsie du ganglion.

Ils représentent 25% des cas de lymphome chez l'enfant. Ces proliférations sont constituées de lymphoblastes de taille moyenne, c'est à dire intermédiaire entre celle des lymphocytes matures et celle des lymphomes B diffus à grandes cellules. La prolifération est caractérisée par une architecture diffuse. Les noyaux des lymphoblastes sont ronds ou légèrement irréguliers, voire convolutés, à la chromatine fine et présentent des nucléoles peu visibles. Les cytoplasmes de ces cellules sont réduits et légèrement basophiles. Les mitoses sont généralement nombreuses, des noyaux de morphologies comparables peuvent s'observer dans les lymphomes lymphoblastiques T et de ce fait un immunophénotypage est toujours nécessaire. Il permettra de plus d'éliminer d'autres tumeurs qui peuvent simuler un lymphome lymphoblastique, notamment certains lymphomes développés à partir de cellules du manteau périfolliculaire ou des formes tumorales de leucémies aiguës myéloblastiques.

III-3-1c- Immunophénotype.

Les lymphoblastes expriment plusieurs antigènes caractéristiques des lymphocytes de la lignée B :CD19, CD22 et CD79a. D'autres antigènes B sont en général présents mais de façon plus inconstante dont CD20, mais également la chaîne μ sans Ig de surface associée. La majorité de ces tumeurs expriment également CD10 (antigène CALLA) dont l'expression est restreinte à certains stades de différenciation. On peut également citer CD13, CD33 et CD34 bien qu'ils ne soient pas spécifiques de ce type de tumeur et qu'on les retrouve également dans des hémopathies non lymphoïdes.

On peut également détecter des enzymes, comme TdT, impliquées dans les remaniements géniques des chaînes lourdes et légères des Ig.

III-3-1d- Génotype.

Dans les lymphomes lymphoblastiques, il n'a pas été trouvé d'anomalies chromosomiques spécifiques. Cependant dans un certain nombre de cas il peut s'associer à un réarrangement des gènes codant les chaînes lourdes des Ig, un réarrangement des gènes des récepteurs alpha et bêta des lymphocytes T et on observe donc des anomalies ou des translocations intéressant la région q11 du chromosome 14 ou la région q32 du chromosome 7. Plusieurs translocations ont donc été décrites dans les leucémies-lymphomes lymphoblastiques B : t(1 ;19), t(9 ;22). Récemment une nouvelle translocation t(12 ;21) impliquant les gènes TEL et AML1 a été rapportée dans 16% des cas de leucémies aiguës lymphoblastiques B.

III-3-2- Lymphomes développés à partir des lymphocytes B périphériques.

Proliférations rassemblant des entités d'une très grande diversité

III-3-21- Lymphome B à grandes cellules.(REAL)

III-3-21a- Clinique.

Les lymphomes à grandes cellules regroupent un ensemble hétérogène d'affections qui doit être subdivisé et dont les hématopathologistes n'étaient pas capables d'identifier de façon reproductible les diverses variétés cytologiques reconnues dans les classifications antérieures (lymphomes centroblastiques, monomorphes, polymorphes ou bien encore à phénotype T comme les lymphomes anaplasiques à grandes cellules Ki1+).

La dénomination de lymphome B à grandes cellules regroupe de ce fait toutes ces tumeurs de phénotype B marqué.

Ces lymphomes sont, avec les lymphomes folliculaires, les plus fréquents des lymphomes malins. Ils représentent 30 à 40% des lymphomes de l'adulte et leur âge médian de survenue est de 60 ans. Mais ils peuvent aussi s'observer chez l'enfant ou ils représentent avec les lymphomes anaplasiques T à grandes cellules 15% des cas et ils sont rares avant l'âge de 2 ans pour un âge moyen de 8 ans. La majorité des patients se présentent avec une volumineuse masse de croissance rapide et de localisation ganglionnaire ou extraganglionnaire plus fréquemment abdominale et thoracique et dont les modes de révélation et la sémiologie clinique dépendent de la localisation initiale.

Ces lymphomes centroblastiques (classification de Kiel) [**Figure 22**] peuvent parfois prendre naissance soit au niveau des plaques de Peyer, soit au niveau des ganglions mésentériques et avoir une expression abdominale avec constitution d'une ascite lors de leur extension aux structures du voisinage. Il est très rare que ce type de tumeur soit révélé précocement.

Les lymphomes thoraciques à grandes cellules B avec sclérose sont très rares, mais comme tous les lymphomes thoraciques ils seront évoqués et révélés par des signes de compression médiastinale (dyspnée, toux, syndrome cave supérieur) ou par des adénopathies cervicales ou axillaires ; parfois la symptomatologie initiale peut être un syndrome asphyxique aigu où le risque de décompensation respiratoire brutale est réel.

Des lymphomes ORL de type lymphome B à grande cellule peuvent également se voir suite à une prolifération initiale au niveau de l'anneau de Waldeyer, cela bien que ce type de lymphome soit la plupart du temps un lymphome de Burkitt, nécessitant donc un diagnostic sur une biopsie initiale de bonne qualité avec un immunophénotypage.

En définitif n'importe quel territoire ganglionnaire peut être atteint et n'importe quel type immunohistologique de lymphome peut se voir.

III-3-21b- Histologie de la biopsie du ganglion.

Il s'agit de proliférations composées de cellules de grande taille, à noyaux fortement nucléolés et à cytoplasme basophile. Ces cellules correspondent soit à des centroblastes soit à des immunoblastes [**Figure 22**] mais il existe fréquemment un mélange de ces deux types de cellules ainsi que d'éléments de morphologie intermédiaire. Dans quelques tumeurs les cellules B malignes sont minoritaires par rapport aux cellules T réactionnelles ; ces tumeurs ont été décrites sous le terme de lymphomes B riches en lymphocytes T, mais elles regroupent peut être des entités hétérogènes. Il faut aussi mentionner l'existence de tumeurs ayant des attributs morphologiques intermédiaires entre les lymphomes B à grandes cellules et le lymphome de Burkitt.

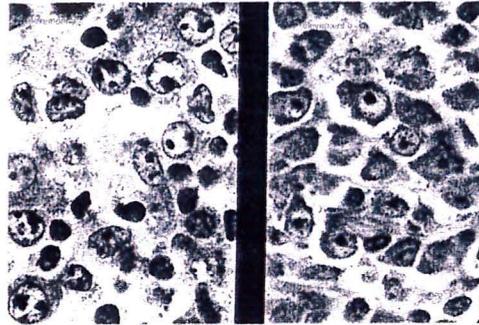
III-3-21c- Immunophénotype.

Toutes ces tumeurs possèdent plusieurs marqueurs B (CD19, CD20, CD22, CD79a) [**Figure 23**] mais la détection d'IgS et IgCyt monotypique est plus inconstante. La majorité de ces tumeurs expriment l'antigène CD45 (commun aux leucocytes). Ce marqueur est en principe utilisé pour différencier un lymphome malin CD45+ d'une tumeur non lymphoïde d'aspect indifférencié CD45- (carcinome, mélanome, sarcome). Les antigènes CD5 et CD10 sont occasionnellement retrouvés dans les lymphomes B diffus à grandes cellules. Deux marqueurs, l'expression de la protéine bcl-2 et le pourcentage de cellules en cycle Ki-67 sont très étudiés puisque susceptible d'avoir une implication pronostique [**Figure 23**]. Dans une étude récente la forte expression de bcl-2 (44% des cas) serait associée à un mauvais pronostic. Bien que les résultats soient parfois discordants il semblerait qu'un pourcentage de cellules marquées par l'anticorps Ki-67 supérieur à 60% soit un facteur de mauvais pronostic (survie médiane de huit mois contre trente six mois si Ki-67<60%).

III-3-21d- Génotype.

Il n'existe pas d'anomalies caractéristiques de ces lymphomes. Cependant un réarrangement clonal des gènes codant les chaînes lourdes [**Figure 24**] et légères des Ig est retrouvé par southern blot ou PCR dans la majorité des cas. Un réarrangement du gène bcl-2 a été décrit dans 20 à 30% des lymphomes B à grandes cellules et est associé à un mauvais pronostic. Ce réarrangement serait beaucoup plus fréquent dans les lymphomes B à grandes cellules d'origine ganglionnaire (40% des cas) que dans les tumeurs extra ganglionnaires (5% des cas).

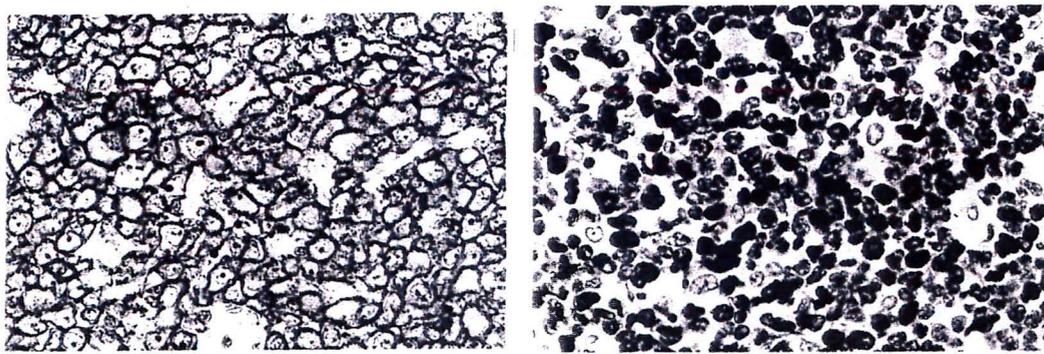
Figure 22 . Examen morphologique au MO après biopsie.



(coloration de Giemsa x 80)

Prélèvement de gauche : Lymphome B diffus à grandes cellules avec un aspect de Lymphome centroblastique
Prélèvement de droite : Lymphome B diffus à grandes cellules avec un aspect de Lymphome immunoblastique

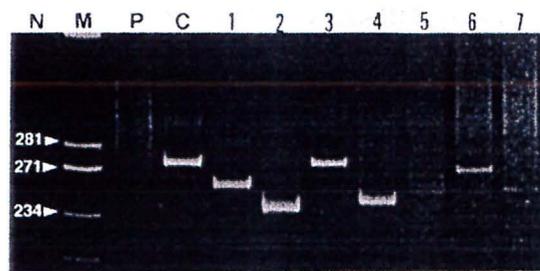
Figure 23 . Examen morphologique au MO après biopsie.



(immunoperoxydase sur coupe en paraffine x80)

Prélèvement de gauche : Lymphome B diffus à grandes cellules. Immunomarquage avec l'anticorps CD20
Prélèvement de droite : Immunomarquage avec l'anticorps Ki-67, qui reconnaît un antigène exprimé par les cellules en cycle. Les noyaux de plus de 80% des cellules tumorales sont marqués, ce qui suggère un Lymphome agressif.

Figure 24 . Mise en évidence par PCR d'un réarrangement clonal des gènes codant la chaîne lourde des Ig dans sept cas de Lymphomes B diffus à grandes cellules.



L'ADN est amplifié par PCR à l'aide des amorces spécifiques des gènes Vh(FR1I)/Jh, puis l'ADN amplifié est séparé par électrophorèse sur gel de polyacrylamide à 6%, coloré par le bromure déthidium, visualisé sous UV et photographié.

N : témoin négatif : amplification sans matrice d'ADN pour détecter une éventuelle contamination par un ADN externe ; M : marqueur de taille (en paires de bases : bp) P : témoin polyclonal (ADN extrait à partir d'un ganglion réactionnel) ; C : contrôle positif (ADN extrait à partir d'un ganglion infiltré par un Lymphome B)
1-2-3-4-6-7 : bande nette indiquant un réarrangement clonal des gènes des Ig.

Figures 22,23,24 D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan

Récemment un réarrangement impliquant le chromosome 3q27 (avec 14q32, 22q11 et 2p12) a été retrouvé dans environ 30% des lymphomes B diffus à grandes cellules.

Seulement 50% de ces réarrangements seraient détectables par analyse cytogénétique. Cette translocation s'accompagne d'une dérégulation du gène LAZ3 codant pour une protéine en doigt de zinc. Cette protéine est un facteur de transcription qui intervient dans la régulation de la transcription au cours du développement et des phénomènes de différenciation. Dans les lymphomes B diffus à grandes cellules, le réarrangement de BCL-6/LAZ3 semble être d'un bon pronostic.

Le génome de l'Epstein Barr virus (EBV) est détecté dans un fort pourcentage de lymphomes B diffus à grandes cellules survenant chez des patients atteints d'une immunodépression acquise (greffe, HIV).

Dans ces tumeurs, les cellules infectées de façon latente par le virus expriment plusieurs gènes viraux (EBNA2+ ; EBER+ ; LMP-1).

III-3-22- Lymphome médiastinal à grandes cellules B.

III-3-22a- Clinique.

Cette variété de lymphomes a été individualisée pour la première fois dans la REAL classification et ils semblent constituer une entité anatomoclinique. L'âge médian est de 40 ans, les femmes sont plus souvent touchées que les hommes et le tableau clinique est celui d'une tumeur médiastinale avec signes de compression (syndrome de la veine cave). L'évolution se singularise par la survenue de localisations extraganglionnaires hépatiques, rénales, digestives, ovariennes et au système nerveux central. Bien qu'il s'agisse d'une lésion très agressive, les résultats les plus récents suggèrent des taux de guérison comparables à ceux des autres lymphomes B à grandes cellules.

III-3-22b- Histologie de la biopsie du ganglion.

Les caractéristiques morphologiques de ces tumeurs varient sensiblement d'un cas à l'autre. Les cellules sont en général assez grandes, à cytoplasme pale, mais leurs noyaux sont soit ronds, d'allure centroblastique, soit irréguliers ressemblant à de grands centrocytes ou multilobés [**Figure 25**]. Des cellules sternbergoïdes sont parfois observées. Une fine fibrose est toujours présente et donne à la prolifération un aspect compartimenté. La constatation de corps de Hassall indique l'origine thymique de ces tumeurs .

III-3-22c- Immunophénotype.

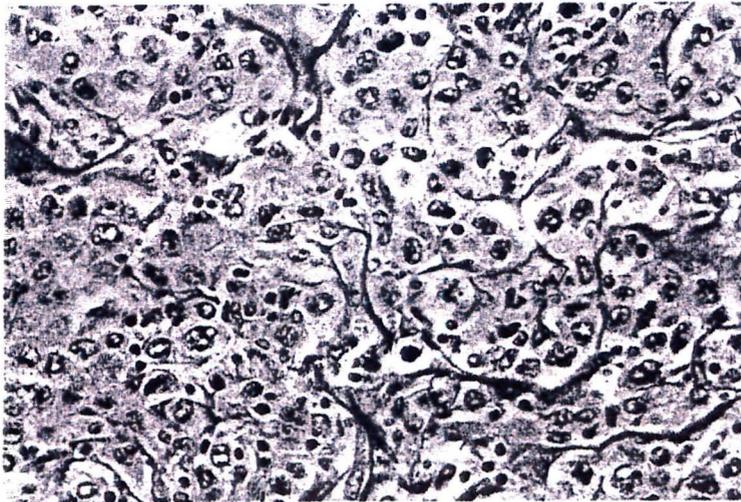
Toutes ces tumeurs possèdent plusieurs marqueurs B (CD19 ; CD20 ; CD22 ; CD79a) mais rarement d'IgS monotypiques.

III-3-22d- Génotype.

Ces tumeurs ont le plus souvent réarrangé les gènes codant les chaînes lourdes des Ig mais ne présentent aucune anomalie cytogénétique caractéristique.

Figure 25 . Examen morphologique au MO après biopsie.

D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



coloration par le PAS x50

Lymphome B médiastinal : les cellules lymphomateuses ont souvent des noyaux irréguliers, multilobés et des cytoplasmes pâles. On note également la sclérose interstitielle qui est l'une des caractéristiques de ces Lymphomes.

III-3-23- Lymphome de Burkitt.

III-3-23a- Clinique.

Ce type de lymphome s'observe à l'état endémique en Afrique Equatoriale et survient de façon sporadique en Europe et en Amérique du nord.

Il s'observe surtout chez les enfants où il représente environ 60% des cas (le plus souvent chez les garçons) pour 5% des lymphomes chez l'adulte. Dans la première classification de Kiel, ils étaient inclus dans les lymphomes lymphoblastiques, mais en sont maintenant exclus. Dans la classification de Rappaport ils s'appellent Lymphomes indifférenciés et dans la formulation internationale « Lymphomes à petites cellules non clivées ».

En 1958, Burkitt, chirurgien anglais travaillant en Ouganda publiait la description princeps d'un lymphosarcome de la mâchoire. Il fut également le premier à noter que ces localisations maxillaires [**Figure 26**] mais également abdominales étaient l'expression d'un même syndrome tumoral et que l'expression géographique de la maladie était particulière, restreinte aux régions tropicales et dépendant d'un climat chaud et humide.

Rapidement des cas de LB ont été identifiés en dehors d'Afrique, avec néanmoins une incidence 50 à 100 fois plus faible, ces formes ont été désignées sporadiques par opposition aux LB africains dits endémiques.

Des particularités épidémiologiques ont rapidement suggéré l'implication d'un agent infectieux dans la survenue d'un LB. En effet on a rapidement pu mettre en évidence des corrélations entre l'incidence des LB et l'intensité de l'infection par *Plasmodium falciparum*. En 1964, Epstein et Barr isolaient dans des lignées lymphoïdes établies à partir de matériel tumoral un nouveau virus appartenant à la famille des Herpesvirus, qui devait recevoir leur nom. Des cartes épidémiologiques ont alors pu être dressées, révélant la précocité de l'infection par EBV, avant l'âge de 2 ans, chez les enfants africains habitant dans des zones à forte incidence de LB. De plus une large étude prospective réalisée en Ouganda a montré que des titres élevés d'Ig anti-EBV constituaient un facteur de risque de développement d'un LB. Ces données sérologiques, l'identification de séquence d'ADN viral dans les cellules tumorales et la démonstration que l'EBV pouvait immortaliser *in vivo* des lymphocytes B humains et induire un lymphome après injection chez le primate, suggéraient que le LB fut une tumeur viro induite.

Ultérieurement s'il est apparu que l'EBV est également associé à des tumeurs épithéliales comme le carcinome du nasopharynx on a également démontré que la pathogénie du LB est plus complexe puisque la présence de l'EBV dans la tumeur est inconstante et que si elle est observée dans 95% des LB endémiques, elle ne l'est que dans 15% des LB sporadiques.

Le LB est donc une entité pathologique définie par des critères cliniques, morphologiques, phénotypiques et génotypiques.

D'un aspect clinique, on oppose classiquement les formes endémiques se manifestant par une tumeur du massif faciale plutôt chez des garçons de 6 à 8 ans et les formes sporadiques européennes d'un âge médian de 12 ans de présentation prédominante abdominale.

En Europe et en Amérique du nord ces tumeurs se développent surtout dans la région iléocaecale, au dépend des plaques de Peyer ou des ganglions mésentériques. Du fait de leur volume, elles peuvent être rapidement perceptibles et

compressives, responsables d'occlusions, d'hémorragies digestives ou plus rarement de perforations révélatrices. Une atteinte extranodale, digestive, rénale, ovarienne ou testiculaire est fréquente. Une infiltration des séreuses est possible. Des adénopathies périphériques sont présentes dans 20% des cas ; cervicales, elles doivent faire rechercher une localisation ORL. Dans moins de 10% des cas, l'atteinte est maxillaire ; elle est exceptionnellement cutanée, osseuse, épidurale ou intracérébrale.

Une infiltration médullaire est présente dans 20% des cas au diagnostic ; elle est beaucoup plus fréquente lors des rechutes. En fait, en l'absence de localisation médullaire morphologiquement visible, une atteinte médullaire occulte peut être détectée à l'aide de techniques immunologiques et cytogénétiques sur des moelles cultivées en milieu liquide.

L'étude du frottis sanguin peut reconnaître des cellules blastiques. Une franche formule leucémique est rare ; elle pose alors le problème nosologique de distinguer, lorsque le syndrome tumoral est important, un LB avec atteinte médullaire d'une Leucémie aigue lymphoblastique, dite LAL3.

Enfin, certains troubles métaboliques, liés à la lyse cellulaire, tels que l'hyperkaliémie, une hyperphosphorémie, une insuffisance rénale, une acidose lactique seront recherchées et prévenues lors de l'induction thérapeutique.

Le diagnostic repose sur l'analyse cytohistologique d'une biopsie ganglionnaire, d'une masse tumorale superficielle ou profonde guidée sous scanner, éventuellement d'une lésion endoscopique accessible à l'endoscopie, voire d'une tumeur abdominale prélevée lors d'une laparotomie de nécessité dans le contexte d'une occlusion. L'étude immunophénotypique confirme le diagnostic évoqué sur l'aspect morphologique des cellules tumorales.

Le lymphome de Burkitt est une tumeur très agressive, de haut grade de malignité caractérisée par un temps de doublement cellulaire rapide allant de 12 heures à quelques jours, mais curable notamment chez l'enfant.

III-3-23b- Analyse cytohistologique d'une biopsie ganglionnaire

Les descriptions anatomopathologiques initiales qui dès les années cinquante ont permis de le classer dans les lymphomes lymphoblastiques de type Burkitt gardent toutes leurs valeurs. Le LB est une prolifération d'architecture diffuse. Les cellules tumorales sont monomorphes et de taille moyenne. Le noyau arrondi, régulier, a une chromatine réticulée et contient 2 à 4 nucléoles. Le cytoplasme peu abondant, très basophile contient des vacuoles claires [**Figure 27**]. Les mitoses sont nombreuses. La présence de macrophages dispersés au sein de l'infiltrat tumoral réalise l'aspect classique dit de ciel étoilé [**Figure 28**]. L'existence d'un pleiomorphisme cellulaire, la variabilité de la taille des cellules tumorales et de la forme de leurs noyaux, dont les nucléoles peuvent être uniques et volumineux définissent des sous types morphologiques, désignés sous le terme de « lymphomes à petites cellules non clivées de type Burkitt ». Une différenciation a pu de plus être notée dans certaines variantes, notamment dans le contexte d'une infection par le virus de l'immunodéficience humaine.

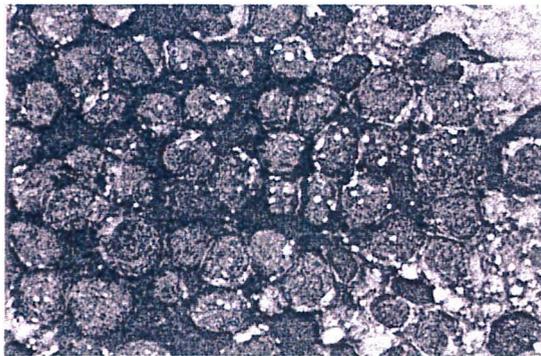
Figure 26 . Lymphome de Burkitt Africain.



Noter l'aspect caractéristique de la localisation maxillaire.

Figure 27 . Examen morphologique au MO après biopsie.

D'après Dr.Raphael, service central d'hématologie, hôpital Avicenne, Bobigny.

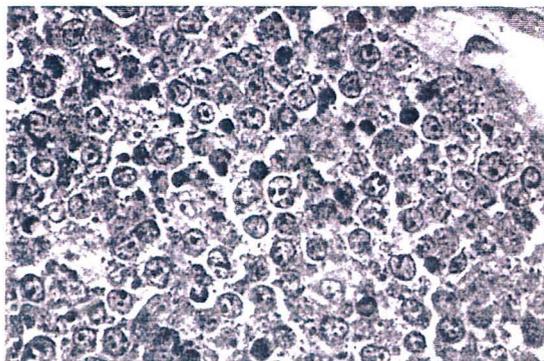


(coloration de Giemsa x 1000)

Aspect cytologique, nappe de cellules de taille moyenne, possédant une chromatine réticulée, des nucléoles visibles et un cytoplasme peu étendu, basophile et vacuolisé

Figure 28 . Examen morphologique au MO après biopsie.

D'après Dr.Raphael, service central d'hématologie, hôpital Avicenne, Bobigny.



(coloration de Giemsa x 400)

Aspect histologique, prolifération cellulaire monomorphe, d'aspect cohésif, constituée de cellules de tailles moyennes

III-3-23c- Immunophénotype.

Le LB a été la première hémopathie lymphoïde identifiée de phénotype B monotypique. Les cellules tumorales portent une IgM de surface et un seul type de chaînes légères, soit κ soit λ . Une sécrétion d'IgM est parfois détectable dans le sérum de patients atteints de LB sporadique de forte masse tumorale. Les cellules malignes expriment également les antigènes B-restreints CD10, CD19, CD 20, CD 77 et habituellement le CD22, de même que les antigènes associés aux cellules B, CD24 et HLA-DR. Le glycolipide CD 77 serait impliqué dans la transduction d'un signal responsable du déclenchement de l'apoptose observée dans les cellules de LB. La molécule CD21 qui constitue un récepteur à la fois pour la fraction C3d du complément et pour la glycoprotéine d'enveloppe de l'EBV est exprimée de façon variable, plus abondante à la surface des cellules tumorales des LB africains que celle des LB sporadiques.

Au contraire des lignées lymphoblastoïdes, issues de lymphocytes normaux circulants infectés par l'EBV, les cellules malignes n'expriment pas les marqueurs d'activation CD23, CD30, CD39 et Ki24 et peu ou pas les molécules d'adhérence CD11a/CD18 (LFA1), CD54 (ICAM1) et CD58 (LFA3). Néanmoins in vitro, certaines peuvent acquérir un phénotype identique à celui des lignées lymphoblastoïdes, CD10-, CD77-, CD23+, CD30+, CD11a/CD18+, CD54+, CD58+. In vivo, la modulation des molécules d'adhésion pourrait permettre aux cellules tumorales d'échapper à l'immunosurveillance T spécifique du virus.

III-3-23d- Génotype.

Dès 1964, on a pu isoler EBV à partir des lignées tumorales de LB et en 1976 ces mêmes lignées ont permis de découvrir l'existence d'une anomalie du bras long (q) du chromosome 14 (14q+) que l'on retrouve dans la majorité des cas de LB. Ultérieurement les techniques de « Banding » ont révélés que l'anomalie 14q+ était le produit d'une translocation réciproque entre les chromosomes 8 et 14, la translocation t(8 ;14)(q24 ;q32). Des translocations variantes ont ensuite été décrites, intéressant le chromosome 8 (8q24) et le bras long du chromosome 22 (22q11), ou le bras court du chromosome 2 (2p12). La t(8 ;14) est la translocation la plus fréquente, observée dans 80% des cas de LB, tandis que les translocations variantes ne sont observées que dans une minorité de LB, respectivement 15 et 5% des cas. [Figure 29]

Plusieurs propriétés caractérisent les translocations du LB. Elles sont constantes mais elles ne sont pas strictement spécifiques du LB puisqu'elles ont été occasionnellement rapportées dans d'autres variétés de lymphomes agressifs, notamment immunoblastiques.

Les translocations ne sont pas directement induites par l'EBV. Elles sont en effet retrouvées dans tous les LB, qu'ils soient « endémiques », associés à l'EBV ou sporadiques, non liés à l'EBV. En revanche ces translocations ne sont jamais détectées dans les lignées lymphoblastoïdes continues induites in vitro par l'EBV, même lorsque la prolifération est entretenue pendant une période prolongée.

La signification moléculaire des translocations t(8 ;14), t(2 ;8) et t(8 ;22) a résulté de la localisation des gènes des Ig, locus de chaînes lourdes H sur le chromosome 4, locus de chaînes légères κ sur le 2, locus λ sur le 22, ainsi que de l'identification du proto oncogène c-myc sur le chromosome 8.

L'oncogène c-myc a été initialement défini comme étant l'homologue cellulaire du gène transformant du rétrovirus de la myélocytomatose aviaire. Localisé à la bande q24 du chromosome 8, le gène c-myc comporte un premier exon non codant et deux exons codants (exons II et III). Son expression cellulaire est ubiquitaire. Il code pour une phosphoprotéine nucléaire, qui participe à la division cellulaire, en favorisant le passage des cellules de la phase G1 à S du cycle cellulaire.

Dans les cellules t(8 ;14) le fragment du chromosome 8 contenant les exons codants II et III de c-myc est transposé sur le chromosome 14, tandis que les gènes VH (gènes codant pour les régions variables des Ig) sont transloqués du chromosome 14 au chromosome 8q- ; les gènes non transloqués des régions constantes des chaînes lourdes des Ig restent sur le chromosome 14q+. [**Figure 30**]

Dans les variantes t(2 ;8) et t(8 ;22) la cassure du chromosome 8 est située du côté le plus distal par rapport au centromère, en 3' de l'exon III de c-myc ; c-myc reste donc sur le chromosome 8q+, tandis que les gènes des chaînes légères C κ ou C λ sont transposés sur le chromosome 2. En définitive, que c-myc soit transloqué sur le chromosome 14 ou qu'il demeure sur le chromosome 8, il est toujours situé en 5' d'un gène d'Ig, et les exons codant II et III de c-myc restent intacts.

En dépit d'une apparente uniformité cytogénétique, il apparaît une hétérogénéité moléculaire selon la localisation des points de cassure. Sur le chromosome 8, les points de translocation t(8 ;14) sont relativement restreints, loin en 5' de c-myc, proche de c-myc ou dans le premier intron du gène ; les points de translocation variante surviennent en 3' du gène.

Sur le chromosome 14, les cassures peuvent se situer en divers points du locus de chaîne lourde, près des segments DH, JH ou des régions « switch » S μ , S γ ou S α . Les plus fréquentes surviennent juste en amont de JH ou de C μ . L'association privilégiée de certains points de cassures sur les chromosomes 14 et 8 suggère que le résultat fonctionnel des translocations en dépend. Ainsi, des points de cassure proches de JH s'associent le plus souvent à des points loin en 5' de c-myc, et des points en S μ à des points proches de c-myc.

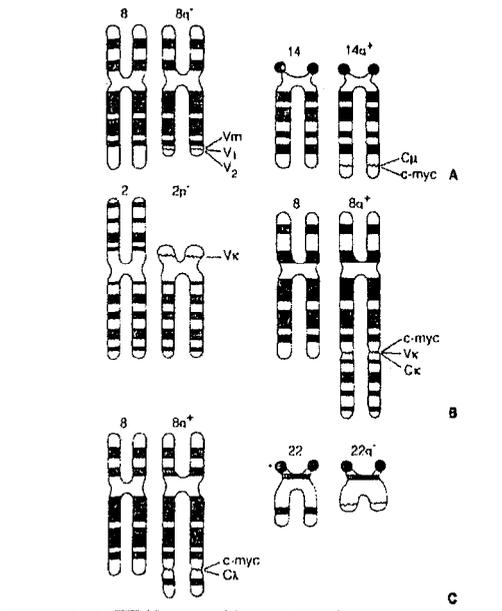
L'intégrité de la région codante de c-myc, préservée quelle que soit la translocation, le fait que c-myc soit exprimé à un niveau comparable à celui de cellules normales proliférantes indiquent que l'anomalie de c-myc est d'avantage liée à une expression inappropriée de l'oncogène dans les cellules tumorales qu'à une surexpression. Les modèles d'hybridation somatique ont montré que les transcrits c-myc proviennent de l'allèle transloqué, tandis que l'allèle normal n'est pas transcrit.

Les mécanismes de la dérégulation de c-myc même si ils semblent liés à la fusion de c-myc avec un gène actif d'Ig restent à élucider. La proximité de c-myc avec des séquences « enhancers » ou cis-activatrices, présentes au sein des gènes d'Ig semble déterminante.

Cependant le virus EBV demeure une composante essentielle dans la pathogénie de certains LB et à défaut d'avoir élucidé son rôle dans la lymphomagenèse du LB (présence observée dans 95% des cas de LB africains et dans 10 à 20% des LB sporadiques) on peut déjà conclure qu'il a un rôle indéniable de cofacteur.

L'absence d'expression des protéines virales immunogéniques LMP1 et EBNA2-EBNA6, la diminution de l'expression des molécules d'adhésion et du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I et II sont les trois mécanismes d'échappement au système immunitaire caractéristiques du lymphome de Burkitt pouvant se développer chez l'immunocompétent.

Figure 29 . Translocations observées au cours du Lymphome de Burkitt.

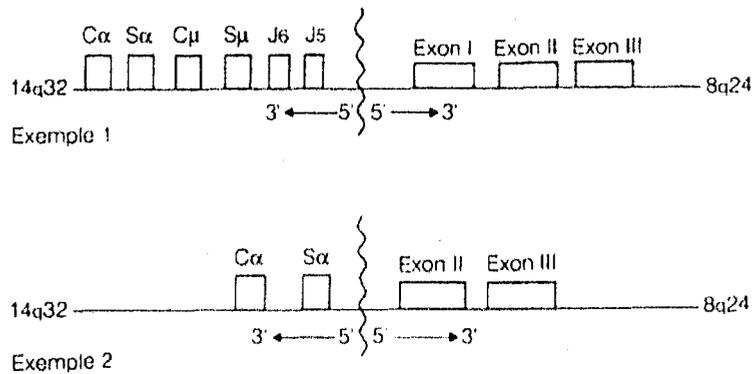


A : Translocation t(8 ;14) : Passage de l'oncogène c-myc du chromosome 8 sur le chromosome 14.

B : Translocation t(2 ;8) : Transfert des gènes Cκ du chromosome 8 sur le chromosome 2.

C : Translocation t(8 ;22) : Transfert des gènes Cλ du chromosome 22 sur le chromosome 8.

Figure 30 . Conséquences moléculaires de la translocation t(8 ;14).



Exemple 1 : t(8 ;14) dans une lignée de Lymphome de Burkitt de type africain, les régions codantes (exons II et III) de c-myc restent intactes et fusionnent avec des gènes des chaînes lourdes d'immunoglobulines en position dite « tête à tête » le point de cassure survenant en amont de J5 sur le chromosome 14 et en amont du premier exon de c-myc sur le chromosome 8.

Exemple 2 : t(8 ;14) dans une lignée de Lymphome de Burkitt de type sporadique, les régions codantes (exons II et III) de c-myc restent intactes et fusionnent avec des gènes des chaînes lourdes d'immunoglobulines en position dite « tête à tête », cela après une délétion du premier exon de c-myc.

Cependant les conditions d'activation des cellules B, qui les exposent à la survenue d'une translocation c-myc/Ig et les événements oncogéniques supplémentaires qui induisent l'immortalisation des cellules B transloquées, sont vraisemblablement rares et restent encore à déterminer. Par exemple l'identification de mutations des gènes p53 et ras dans des lignées tumorales de LB est cohérente avec le schéma d'une oncogénèse en plusieurs étapes.

III-3-24- Leucémie à tricholeucocytes.

III-3-24a- Clinique.

La leucémie à Tricholeucocytes a été décrite pour la première fois en 1958 par Bouroncle sous le nom de « Leukemic reticulo-endotheliosis » et elle a ensuite été rebaptisée du fait de l'aspect chevelu du cytoplasme des cellules anormales présentes dans le sang.

Aucun facteur étiologique n'a été reconnu à la maladie, cependant la prédominance des formes atteignant l'homme (prédominance du sexe masculin de 4 sur 1) et la majorité des cas se situant entre 40 et 60 ans, la maladie ne se voyant pas chez l'enfant doit faire rechercher de principe une exposition à des toxiques professionnels, en particulier le benzène. Si on a pu mettre en évidence un cas d'association de leucémie à tricholeucocytes avec une infection à HTLV2 aucune autre recherche d'association d'un rétrovirus à cette maladie n'a abouti.

Cependant cela reste une maladie rare représentant tout au plus 4% des leucémies. Le plus souvent cette maladie chronique se développe insidieusement et si de plus en plus souvent la découverte est fortuite sur une numération à titre systématique de bilan, les symptômes conduisant le plus fréquemment au diagnostic sont l'asthénie, les épisodes infectieux ou bien plus rarement une douleur de l'hypocondre gauche conduisant à la découverte d'une splénomégalie présente dès le diagnostic dans 70 à 90% des cas. Une hépatomégalie est alors palpable dans 20% des cas.

Par contre les adénopathies superficielles sont extrêmement rares. Des adénopathies profondes au niveau du hile splénique sont fréquentes.

Les manifestations infectieuses accompagnant la maladie sont extrêmement fréquentes puisqu'accompagnant la neutropénie et la monocytopenie caractéristique de la maladie.

Des lésions osseuses lytiques avec infiltration par les tricholeucocytes, rares mais remarquables, peuvent se manifester par des douleurs osseuses. D'autres manifestations particulières, auto-immunes comme des vascularites ou des lésions cutanées ont été décrites (associées à une augmentation de la VS et parfois à une positivité des anticorps antinucléaires et du facteur rhumatoïde).

L'évolution de la leucémie à tricholeucocytes est très variable et étant donné la rareté de la maladie elle a surtout été appréciée sur des séries rétrospectives, en 1990 des patients ayant été suivis plus de 60 mois étaient alors considérés comme des longs survivants bien qu'un malade de l'hôpital Saint Louis soit encore vivant 24 ans après la date du diagnostic.

III-3-24b- Analyse cytohistologique.

Sur les échantillons de biopsie ostéomédullaire et dans la rate, l'aspect cytologique des tricholeucocytes est caractéristique. Sur un frottis de sang il se

présente comme une cellule de 12 à 200 microns, avec un noyau rond ou ovale, réniforme dans certains cas. La chromatine est fine et on ne voit pas habituellement de nucléoles. Le cytoplasme est étendu, son bord est difficile à suivre car irrégulier, légèrement basophile. [**Figure 31**]

Longtemps la cytochimie avec l'étude de la phosphatase acide tartrate résistante réalisée par Yam et coll eu un intérêt diagnostique maintenant limité.

De façon très caractéristique, le myélogramme ne montre le plus souvent qu'un frottis pauvre où l'on retrouve des tricholeucocytes et quelques éléments myéloïdes normaux.

III-3-24c- Immunophénotype.

Les progrès de l'immunologie ont permis de démontrer que ces cellules sont des lymphocytes B. Les anticorps monoclonaux ont montré que ces cellules avaient un profil antigénique particulier : IgS monotypiques, présence de plusieurs antigènes B associés aux antigènes CD11c, CD25 et CD103. L'anticorps DBA.44/CD76 est très utile dans la détection de localisations médullaires [**Figure 32**] résiduelles, après traitement. Contrairement à la Leucémie lymphoïde chronique où une cellule normale de même phénotype a été identifiée, aucune cellule de phénotype comparable aux tricholeucocytes n'a jusqu'ici été mise en évidence.

III-3-24d- Génotype.

Il n'existe pas d'anomalies caractéristiques de ces lymphomes cependant là aussi un réarrangement clonal des gènes codant les chaînes lourdes et légères des Ig peut être retrouvé.

III-3-25- Plasmocytome (PCT) -Myélome multiple.

III-3-25a- Clinique.

Les plasmocytomes humains sont des lymphomes B à expression tumorale principalement plasmocytaire et médullaire, caractérisés par l'accumulation de plasmocytes plus ou moins différenciés au sein de la moelle osseuse. Ils sont responsables de 1 à 2% de la mortalité par cancer au sein de la population blanche caucasienne où ils représentent 10 à 15% des lymphomes.

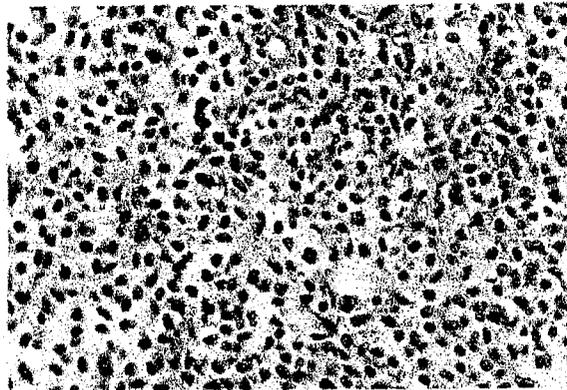
Les PCT sont 2 fois plus fréquents chez les noirs américains où ils représentent un tiers des lymphomes. Ceci s'expliquant à la fois par des facteurs génétiques mais aussi, sociaux économiques. Ils s'observent rarement avant 40 ans et leur incidence augmente rapidement avec l'âge avec une prédominance masculine constante. En dépit de données récentes signalant une augmentation de l'incidence elle semble tout de même rester stable dans les régions très médicalisées depuis 1945.

L'épidémiologie des PCT humains reste obscure et leur cause inconnue malgré de nombreux progrès accomplis ces dernières années dans la connaissance de ces tumeurs.

L'exposition aux radiations ionisantes est le seul facteur de risque établi. Concernant les activités professionnelles, l'écrasante majorité des facteurs de risque est liée à l'agriculture et principalement à l'activité de fermage et l'utilisation de pesticides.

Figure 31 . Leucémie à Tricholeucocytes, infiltration médullaire.

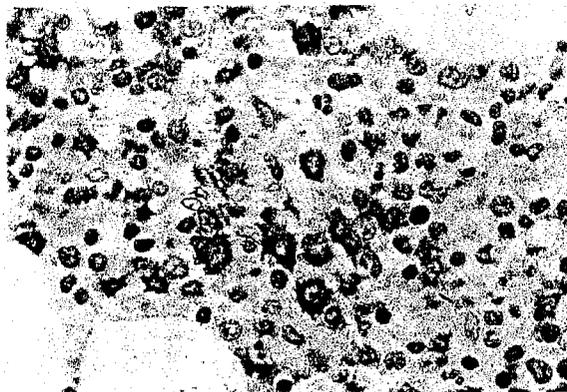
D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



hémalun-éosine x 40

Figure 32 . Tricholeucocytes résiduels sur une coupe de biopsie ostéomédullaire.

D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



immunomarquage par CD76/DBA.44 sur coupes en paraffine avec révélation à la phosphatase alcaline x 80

Bien que plusieurs cas familiaux de PCT aient été décrits, leur fréquence reste plus faible que dans la maladie de Waldenström et la leucémie lymphoïde chronique. Aucune liaison significative, permettant de définir un risque relatif pour l'individu, n'a été retrouvé avec les groupes sanguins du système ABO.

Une méta-analyse a démontré un risque accru de PCT pour les individus HLA-B5. Plus récemment une augmentation significative de HLA-CW2 a été observée dans les PCT tant chez les blancs que chez les noirs américains. Si de nombreuses études ont décrit des associations plus ou moins significatives entre PCT et divers états (infectieux, allergie, immunisation...) elles restent la plupart du temps contradictoires et les seules affections humaines où il semble exister un risque accru de PCT sont la polyarthrite rhumatoïde, la maladie de Gaucher, la leucémie lymphoïde chronique et probablement le SIDA.

Un PCT doit être évoqué dans le cadre d'un patient présentant des douleurs osseuses en rapport avec une simple ostéoporose et/ou une ostéolyse, une forte augmentation de la VS, une anémie profonde, une insuffisance rénale avec protéinurie, des infections pulmonaires et/ou urinaires à répétition en rapport avec un déficit de la synthèse d'anticorps.

A l'opposé, chez des sujets asymptomatiques, c'est la découverte souvent fortuite (bilan de santé) d'une forte augmentation de la VS (>100 mm à la première heure), d'une IgG ou IgA monoclonale à l'électrophorèse sérique ou d'une protéinurie à chaîne légère qui doit conduire le médecin à suspecter le diagnostic.

Il ressort également que la majorité des PCT sont diagnostiqués chez des individus déjà suivis pour une gammopathie monoclonale d'origine indéterminée (MGUS) qui dans un quart des cas vont développer un syndrome immunoprolifératif.

L'épidémiologie analytique montre donc un lien étroit entre MGUS et PCT, la majorité des PCT survenant sur une MGUS préexistante. L'histoire naturelle des PCT telle qu'on la connaît aujourd'hui peut donc se résumer en trois phases : Pré-MGUS, MGUS, PCT.

Dans certains cas exceptionnels, il est possible de reconstituer la totalité de l'histoire naturelle (préclinique) du clone malin, et ce lorsque la spécificité épitopique de l'Ig monoclonale est connue et que l'on peut remonter à la date de l'immunisation initiale. Ces observations montrent que l'histoire du clone évolue sur plusieurs dizaines d'années. L'étude exhaustive de la littérature montre, cependant, que les Ig humaines ne reconnaissent que rarement des antigènes étrangers et que ce sont en fait souvent des autoanticorps. Ces Ig monoclonales expriment fréquemment des idiotypes partagés avec ceux d'autoanticorps observés dans les maladies auto-immunes ou avec d'autres lymphomes. Ces données suggèrent qu'une dysrégulation du système immunitaire T contrôlant normalement la production des autoanticorps est à l'origine des émergences des MGUS, mais également que ces clones sont certainement soumis à une régulation idiotypique, compte tenu du fait que les idiotypes partagés par les Ig monoclonales sont des idiotypes régulateurs.

Dans 99% des cas, les PCT humains se présentent sous forme disséminée dès le diagnostic ; 80% des PCT humains produisent un IgG ou une IgA monoclonale complète avec cependant fréquemment un excès de chaînes légères kappa ou lambda. Dans 14% des cas, seules les chaînes légères sont excrétées et dans ce cas la chaîne lourde est soit produite mais non assemblée soit non produite. Dans 5% des cas, le PCT a un type immunochimique inhabituel, IgD, IgM, IgE, biclonal ou surtout non excréteur, voire non producteur.

La malignité des PCT humains s'exprime principalement par une destruction osseuse (hyper résorption ostéoclastique au contact de la tumeur) associée à une hypercalcémie, une insuffisance médullaire s'exprimant principalement par une anémie normochrome, une hypogammaglobulinémie avec infections récurrentes principalement bactériennes et aux stades avancés de la maladie l'aggravation du déficit lymphocytaire T CD4 facilitant l'émergence d'infections virales et opportunistes.

L'Ig monoclonale est impliquée, directement ou non, par ses propriétés physicochimiques et/ou immunochimiques et sa structure parfois anormale, dans un certain nombre de lésions rénales comme une néphropathie tubulo-interstitielle, ou encore amylose, cryoglobulinémie, activité (auto)anticorps responsable de neuropathie démyélinisante, manifestations hémorragiques, syndrome d'hyperviscosité ou encore vascularite leucocytoclasique.

En définitif, le myélome multiple décrit par Kahler n'est que la principale forme anatomoclinique des proliférations plasmocytaires malignes et il est nécessaire de citer quelques types particuliers de PCT ayant un pronostic bien différent et souvent beaucoup plus mauvais que la forme habituelle. En effet si le plasmocytome solitaire osseux peut être guéri, dans un petit pourcentage de tels malades les leucoses à plasmocytes réalisent un tableau gravissime de leucose aiguë de pronostic redoutable, la plupart des patients décédant précocement.

Le pronostic des malades atteints de PCT reste médiocre, avec une médiane de survie de 3 ans. Les cas de guérison sont exceptionnels, toujours discutables. Moins de 4% des patients vivent plus de 10 ans.

III-3-25b- Analyse cytohistologique.

La cellule reconnue comme tumorale dans les plasmocytomes humains est le plasmocyte. Ces cellules tumorales sont plus ou moins indifférenciées (plasmoblastes, proplasmocytes, plasmocytes). Leur accumulation, principalement dans la moelle osseuse, caractérise la pathologie. Les formes avec plasmoblastes (formes anaplasiques) sont associées à un mauvais pronostic. Les formes localisées (plasmocytomes solitaires) sont toujours faites de plasmocytes peu atypique. En phase terminale de la maladie, existe une dissémination par voie sanguine de ces cellules tumorales, principalement aux organes lymphoïdes secondaires mais aussi aux viscères.

L'étude cytologique montre un infiltrat moyen de la moelle osseuse de 30%. Le principal critère cytologique de malignité étant l'asynchronie nucléocytoplasmique entre un cytoplasme relativement mature et un noyau immature. Elle est bien évaluable en microscopie électronique alors qu'en microscopie optique il n'existe pas de consensus sur la définition d'un plasmoblaste et d'un proplasmocyte par rapport à un plasmocyte plus mature.

La biopsie ostéomédullaire montre l'organisation spatiale de la plasmocytose (nodulaire, interstitielle ou diffuse) qui a une valeur tant diagnostique que pronostique.

Si la biopsie médullaire peut apporter dans des cas difficiles des arguments au diagnostic de plasmocytose maligne (disposition des plasmocytes en amas autour des vaisseaux ou au niveau de l'endoste, présence de fibrose, présence d'un remodelage osseux anormal) le diagnostic de PCT reste formellement à retenir si il y a présence d'une Ig monoclonale circulante et/ou protéinurie à chaîne légère.

En cas de difficultés persistantes certains examens plus spécialisés pourront conforter un diagnostic différentiel notamment avec une MGUS.(étude du cycle cellulaire, du phénotype, du génotype)

III-3-25c- Phénotype.

Les cellules de PCT humains ont un phénotype de plasmoblastes. Une forte expression de CD38, CD28 et à l'exception des molécules CD79a et CD10 ils ne présentent pas d'autres antigènes B. On peut noter la présence irrégulière d'antigènes myélomonocytaires (CD13, CD33), mégacaryocytaires, érythroïdes et l'expression variable de différents antigènes d'adhésion.

La nature réelle du précurseur myélomateux est inconnue. L'identification de lymphocytes B sanguins et médullaires, voire de cellules pré-B portant les déterminants idiotypiques caractéristiques de l'Ig monoclonale, a pu suggérer que ces cellules appartenaient au clone tumoral et que le précurseur tumoral pouvait être ce type cellulaire.

Les Ig monoclonales expriment fréquemment des idiotypes partagés qui ne peuvent donc plus être considérés comme des marqueurs tumoraux ni même clonaux. Beaucoup de ces lymphocytes B idiotypiques n'appartiennent manifestement pas au clone tumoral, car polyclonaux et n'exprimant pas les mêmes réarrangements de gènes d'Ig que le PCT.

Ils pourraient représenter des lymphocytes B activés dans le cadre du réseau idiotypique.

Cependant il est intéressant de noter que des études récentes par PCR in vitro des séquences d'ADN de la région CDR3 hypervariable des gènes d'Ig ont montré l'existence de mutations ponctuelles à ce niveau. Ces mutations somatiques apparues après la rencontre du clone avec l'antigène, donnent au segment CDR3 la valeur d'une véritable empreinte génétique clonale et tumorale. L'utilisation de cette empreinte a permis de montrer que ces précurseurs tumoraux circulent par voie sanguine chez les malades atteints de PCT, en l'absence de cellules plasmocytaires reconnues comme telles. Cependant, le phénotype de ces cellules, à savoir lymphocytes B, plasmoblastes ou cellules immatures, n'est pas clairement défini.

Ce petit compartiment de cellules les plus immatures, hautement proliférant est responsable de la progression de la tumeur.

Cette prolifération tumorale est sous la dépendance de facteurs produits par l'environnement tumoral, stromal et hématopoïétique en réponse à la tumeur. Ainsi cette prolifération maligne est sous la dépendance de plusieurs facteurs de croissance et notamment l'interleukine 6 (IL6), cependant il n'est pas exclu qu'une sous population tumorale sécrète sa propre IL6 de façon autocrine. Outre la prolifération tumorale, cette production excessive d'IL6 dans la moelle de PCT peut expliquer l'ostéolyse.

L'IL6 n'est finalement pas la seule cytokine impliquée, mais elle est le produit final d'une cascade de cytokines (IL1, tumor necrosis factor α : TNF α ...) produites par l'environnement en réponse à l'activation tumorale, par l'intermédiaires d'eïcosanoïdes...

Actuellement l'IL6 liée au taux de CRP a une grande valeur pronostique dans les PCT humains, mais déjà in vitro des anticorps anti-IL6 ont démontré qu'ils pouvaient totalement inhiber la prolifération d'une culture de cellules de PCT.

III-3-25d- Génotype.

Il n'existe pas de réarrangement spécifique des PCT, cependant de très nombreuses anomalies cytogénétiques sont constatées.

Par opposition à la leucémie lymphoïde chronique, tumeur diploïde, les PCT sont aneuploïde dans 80% des cas ;10% des PCT sont hypodiploïdes ;cet état d'hypodiploïdie s'associant à une résistance à la chimiothérapie et à un mauvais pronostic.

Toutes les études cytogénétiques confirment l'existence de nombreuses anomalies caryotypiques dans les PCT dès le diagnostic, incluant gain et/ou perte de chromosomes et anomalies structurales. Les gains portent essentiellement sur les chromosomes 3, 9 et 19 et les pertes sur le chromosome 13.

Parmi les anomalies structurales outre celles du 5 et du 7 qui pourraient être induites par la chimiothérapie, les plus fréquentes portent sur le chromosome 1 (sans point de cassure privilégié), le 11 (en 11q1.3 surtout) et le 14 (en 14q3.2). Tandis que les translocations (8 ;14) et (14 ;18) s'avèrent exceptionnelles dans les PCT ; 3 à 5% des patients présentent des translocations (11 ;14)(q1.3;q3.2) propres aux Lymphomes du manteau.

Les principales phases évolutives des PCT humains sont associées à des événements oncogéniques précis. Ces événements impliquent principalement les gènes *myc* et *bcl-2*, *ras* ainsi que celui de la protéine p53.

Les protéines *myc* et *bcl-2* sont fréquemment hyperexprimées dans les PCT et il est rare que ce phénomène puisse s'expliquer par des réarrangements de gènes, par une amplification génique ou par la présence de mutations ponctuelles.

Cependant la présence de mutations ponctuelles sur certains allèles de l'oncogène RAS est bien établie dans les PCT humains. De telles mutations s'observent chez 10 à 25% des malades en phase chronique, 30 à 50% de ceux en phase accélérée et dans 75% des cas en phase aiguë. Seuls les allèles N et K *ras* sont mutés, principalement sur les codons 61, 12 et 13. Au diagnostic, jusqu'à 27% des malades atteints de PCT présentent de telles mutations et elles sont retrouvées chez 66% des malades résistant d'emblée à la chimiothérapie.

Comme pour le gène *ras*, la présence de mutations ponctuelles sur le gène de la p53 est bien établi dans la PCT. Alors que moins de 1% des malades ont de telles mutations en phase chronique, ces mutations s'observent dans 10% des cas en phase accélérée et surtout 25 à 43% des cas en phase aiguë.

III-3-26-Lymphome folliculaire.

Le lymphome folliculaire présentant un phénotype B périphérique est classé selon la formulation de travail à usage clinique dans les lymphomes indolents (**tableau IV**), avec :

- les lymphomes du manteau
- les lymphomes de la zone marginale
- les lymphomes diffus plasmocytaires et leur variante lymphoplasmocytaire

III-3-26a- Clinique.

Les LNH indolents sont connus depuis plus de 70 ans et ils étaient initialement décrits sous le terme de lymphomes gigantofolliculaires. La REAL classification a récemment individualisé plusieurs entités qui n'avaient pas été antérieurement décrites avec précision sans pour autant spécifier lesquelles pouvaient être considérées comme de faible grade. Ces types histologiques peuvent cependant être considérées comme ayant une évolution indolente chez la majorité des malades.

Ces lymphomes folliculaires affectent avec une fréquence comparable les hommes et les femmes. Ils représentent 30 à 40% des lymphomes malins non Hodgkiniens, l'âge médian de survenue se situe autour de 55 ans et les lymphomes folliculaires du sujet jeune ont le même pronostic que celui des sujets âgés.

Les lymphomes folliculaires sont des proliférations malignes de cellules B des centres germinatifs caractérisés par la persistance d'une architecture folliculaire (nodulaire) de la prolifération analogue à celle du ganglion normal.

Cliniquement il s'agit le plus souvent d'affections disséminées multiples lors du diagnostic caractérisées par une fréquence élevée d'atteintes médullaires (60-70% des cas), splénique (50%), hépatique (50%). Les formes localisées ne représentant pas plus de 10 à 15% des cas.

Les lymphomes folliculaires ont une évolutivité clinique lente. Cependant dans 15 à 20% des cas, ils se transforment en un lymphome de plus forte malignité histologique, soit par disparition de l'architecture folliculaire, soit en évoluant vers un lymphome B diffus à grandes cellules.

Cliniquement, la transformation histologique se caractérise par une altération de l'état général, une fièvre, une poussée tumorale rapide et un pronostic mortel en quelques mois.

Inversement des régressions spontanées de LNH folliculaires ont été décrites et s'observeraient dans 20 à 30% des cas.

III-3-26b- Analyse cytohistologique.

L'architecture en général folliculaire de ces tumeurs [**Figure 33**] leur a donné leur nom, ce terme étant donc préférable à celui de nodulaire qui est parfois utilisé.

Cette architecture caractéristique est due à la présence de réseaux de cellules folliculaires dendritiques comparables aux réseaux des follicules lymphoïdes normaux. En cours d'évolution, des zones d'aspect diffus avec sclérose peuvent apparaître.

Tableau IV. Caractéristiques histologiques, immunologiques et moléculaires des principaux lymphomes B indolents individualisés selon la REAL classification.

Type	Caractéristiques histologiques	Caractéristiques Immunologiques	Caractéristiques moléculaires
Leucémie lymphoïde chronique B/ lymphome diffus lymphocytaire	<ul style="list-style-type: none"> - Infiltration diffuse de petits lymphocytes - Cellules plus grandes (prolymphocytes et para-immunoblastes) réparties ou regroupées en « pseudofollicules » 	sigM ⁺ (faible) CD19 ⁺ , CD20 ⁺ , CD79a ⁺ , CD5 ⁺ , CD23 ⁺ , CD43 ⁺ , CD10 ⁻	R-Ig H ⁺ R-Ig L ⁺ Trisomie 12 Anomalies 13q
Lymphome lymphoplasmocytoïde/ immunocytome	<ul style="list-style-type: none"> - Prolifération diffuse de lymphocytes, lymphoplasmocytes et plasmocytes 	cIgM ⁺ CD19 ⁺ , CD20 ⁺ , CD79a ⁺ , CD5 ⁺ , CD10 ⁺ , CD43 ^{+/}	R-Ig H ⁺ R-Ig L ⁺
Lymphome centrofolliculaire	<ul style="list-style-type: none"> - Prolifération de cellules centrofolliculaires avec une architecture folliculaire ou folliculaire et diffuse - Mélange de centrocytes (petits ou grands) et de centroblastes 	sigM ⁺ , sigD ^{+/} , CD19 ⁺ , CD20 ⁺ , CD79a ⁺ , CD10 ^{+/} , CD23 ^{+/} , CD5 ⁺ , CD43 ⁺ , CD11c ⁺ , bcl-2 ⁺	t (14; 18) R-bcl2
Lymphome du manteau	<ul style="list-style-type: none"> - Prolifération de cellules lymphoïdes de taille petite à moyenne au noyau clivé ou irrégulier - Architecture diffuse ou nodulaire avec envahissement du manteau avec follicules réactionnels 	sigM ⁺ , sigD ⁺ , CD19 ⁺ , CD20 ⁺ , CD79a ⁺ , CD5 ⁺ , CD10 ^{+/} , CD23 ⁺ , CD43 ⁺ , CD11c ⁺	t (11; 14) R-bcl1
Lymphome B de la zone marginale : - extranodal : MALT - nodal : monocytoïde - splénique (avec ou sans lymphocytes villosités)	<ul style="list-style-type: none"> - Prolifération hétérogène de cellules de la zone marginale (<i>centrocyte-like</i>), de cellules B monocytoïdes, de petits lymphocytes - Dans les organes extraganglionnaires, envahissement de l'épithélium : lésions lymphoépithéliales - Prédominance de l'atteinte dans la zone marginale des ganglions et de la rate (pulpe blanche) 	sigM ⁺ , SigD ⁺ , cIg ⁺ , CD19 ⁺ , CD20 ⁺ , CD79a ⁺ , CD5 ⁺ , CD10 ⁺ , CD23 ⁺ , CD43 ^{+/} , CD11c ^{+/}	Trisomie 3

R-IgH (ou bcl-1, bcl-2...) : réarrangement du gène correspondant.

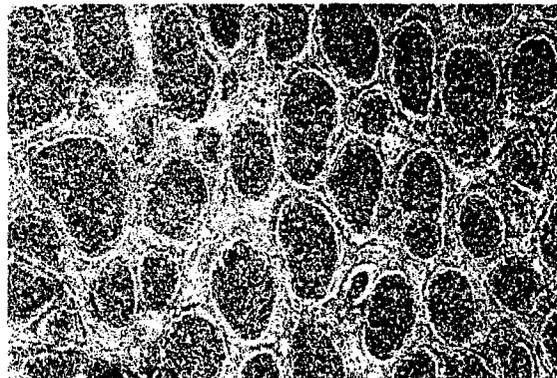
sIg : immunoglobulines de surface

cIg : immunoglobulines cytoplasmiques

MALT : mucosa-associated lymphoid tissue.

Figure 33. Lymphome Folliculaire.

D'après G. Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



Hémalun éosine x 25

examen histopathologique conventionnel montrant l'aspect folliculaire de la prolifération du à la présence d'un réseau de cellules folliculaires dendritiques ; nécessitant une étude immunohistochimique pour être mises en évidence

Les follicules lymphomateux sont constitués par une population prédominante de centrocytes identifiables à leur noyau encoché et anguleux associés à quelques centroblastes à noyau rond, nucléolé et à cytoplasme basophile.

Selon la proportion de centrocytes et de centroblastes, on distingue des lymphomes folliculaires de grade I (prédominance des centrocytes) ou de grade II (plus de 50% de blastes) [**Figure 34**].

Ces grades ont probablement un intérêt pronostic mais il n'est pas aisé d'utiliser ces critères. Pour cela la formulation internationale de travail à usage clinique avait choisi de distinguer des formes de lymphomes folliculaires à petites cellules, mixtes à petites et à grandes cellules et à grandes cellules. Les deux premières étant considérées comme des formes de lymphomes de faible malignité. Mais ces critères de distinction entre ces trois types cytologiques sont quelque peu arbitraires et la classification est très variable d'un pathologiste à l'autre.

III-3-26c- Phénotype.

Ces tumeurs présentent un phénotype très proche de celui des cellules B des centres germinatifs normaux.

Elles expriment plusieurs antigènes B (CD19, CD20, CD22, Cd79a) et elles expriment également l'antigène CALLA (CD10) contrairement aux lymphomes des cellules du manteau (elles sont par contre dépourvues de CD5 et CD43 d'ou un diagnostic différentiel aisé).

Elles expriment une Ig avec une restriction d'isotype de la chaîne légère caractéristique des proliférations B malignes.

Une autre particularité des lymphomes folliculaires est la présence de l'oncoprotéine bcl-2 qui confère aux cellules lymphomateuses un avantage de survie en les protégeant contre l'apoptose.

Plus de 85% des lymphomes folliculaires expriment bcl-2 alors qu'elle est absente dans les follicules réactionnels (intérêt dans le diagnostic différentiel entre lymphome et hyperplasie folliculaire) [**Figure 35**].

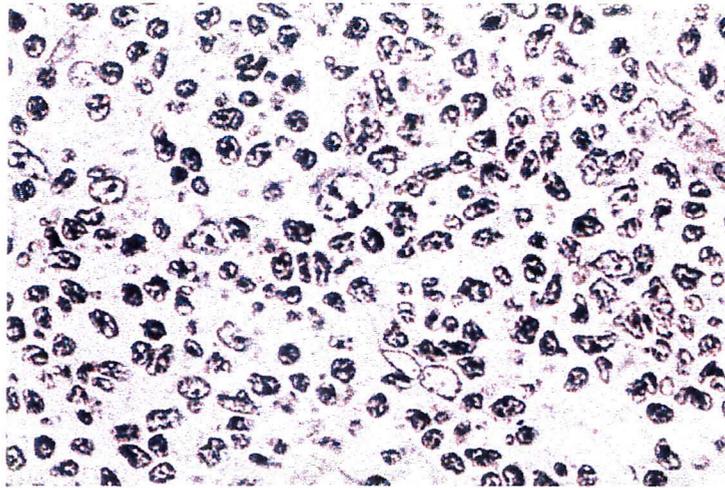
III-3-26d- Génotype.

Dès 1979, il est apparu un lien étroit entre la translocation t(14 ;18)(q23 ;q21) et l'architecture folliculaire d'un LNH.

Cette translocation qui fusionne le pro-oncogène bcl-2 présent sur le chromosome 18, au voisinage ou à l'intérieur de la région de jonction du gène des chaînes lourdes d'immunoglobulines est la plus fréquente en pathologie hémolymphatique. Ceci entraîne une surexpression de la protéine bcl-2 ; dans de rares cas, cette dernière peut s'observer sans être associée à la t(14 ;18). Les points de cassure sur le chromosome 18q21 sont localisés en deux régions particulières du gène et quelle que soit la localisation du point de cassure, les régions codantes du gènes bcl-2 c'est à dire ses exons I et II sont intégralement transloquées sur le chromosome 14 dans les cellules t(14 ;18), la proximité avec les gènes des chaînes lourdes d'immunoglobulines entraîne alors une activation importante et permanente de bcl-2. La translocation (14 ;18) est un phénomène précoce au cours de la différenciation cellulaire des cellules B, survenant comme une erreur au cours de la jonction entre un gène de diversité (D) et un gène de jonction (J).

Figure 34. Lymphome Folliculaire.

D'après G. Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan

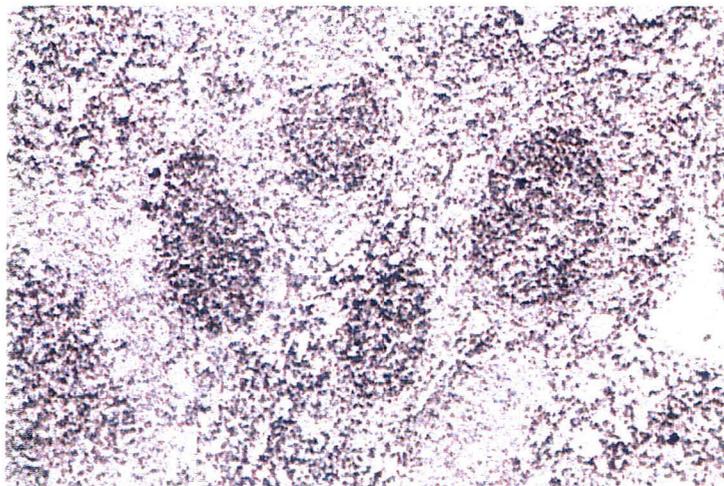


hémalum-éosine x 80

Examen au fort grossissement d'un follicule lymphomateux comportant un mélange de centrocytes (population prédominante) et de centroblastes associés à des cellules folliculaires dendritiques.

Figure 35. Lymphome Folliculaire.

D'après G. Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



immunomarquage sur coupe à congélation avec révélation à la phosphatase alcaline x 12,5

Immunoréactivité des cellules lymphomateuses avec l'anticorps anti-bcl 2.

La survenue de cette translocation n'empêche pas la poursuite de la différenciation cellulaire B avec un réarrangement des chaînes lourdes sur un autre allèle. Pour des raisons qui restent à déterminer, les cellules t(14 ;18) doivent poursuivre leur différenciation avant de pouvoir exprimer leur capacité de prolifération maligne.

La translocation t(14 ;18) crée par ailleurs une zone jonctionnelle hypervariable par sa taille et sa séquence, zone spécifique de chaque clone cellulaire et qui peut ainsi être utilisée comme marqueur de clonalité.

Après amplification par PCR, le séquençage de la zone jonctionnelle permet la construction de sondes oligonucléotidiques spécifiques de chaque clone tumoral et donc propre à chaque patient. Ces sondes clonospécifiques constituent donc une sorte d'empreinte digitale moléculaire qui permet de suivre l'évolution du clone tumoral, de détecter la maladie résiduelle après traitement et les rechutes. Il est maintenant bien établi que des lymphocytes porteurs de la t(14 ;18) peuvent être détectés dans les ganglions, le sang et la moelle de sujets normaux. Ces résultats suggèrent que d'autres événements sont nécessaires à la transformation maligne des lymphocytes portant la t(14 ;18).

III-3-27- Lymphomes lymphoplasmocytaires, immunocytomes.

III-3-27a- Clinique.

Ce sont des proliférations malignes d'évolution lente survenant chez des sujets âgés. Ils présentent des adénopathies, une infiltration médullaire et une splénomégalie. Des localisations extraganglionnaires (tissu mou, peau, orbite) sont possibles. Une IgM monoclonale sérique avec syndrome d'hyperviscosité est notée dans la majorité des cas.

Si ils sont indolents, ils ne sont pas pour autant curables avec les traitements actuels et une transformation en lymphomes B diffus à grandes cellules peut survenir.

III-3-27b- Analyse cytohistologique.

Ces tumeurs réalisent des proliférations diffuses faites de lymphocytes, soit de morphologie banale, soit avec différenciation plasmocytaire. Des inclusions intranucléaires PAS positives sont souvent présentes (corps de Dutcher).

Ces proliférations correspondent typiquement au tableau de la macroglobulinémie de Waldenström. Ces lymphomes doivent être distingués d'autres variétés de lymphomes (lymphomes de la zone marginale, lymphome folliculaire) qui peuvent également présenter une différenciation plasmocytaire.

III-3-27c- Phénotype.

Ces cellules expriment plusieurs antigènes B, CD19, CD20, CD22, CD79a mais contrairement aux LLC sont dépourvues de l'antigène CD5.

Des IgM de surface et IgG cytoplasmiques monotypiques (κ ou λ) sans IgD sont présentes.

III-3-27d- Génotype.

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

III-3-28- Lymphome des cellules du manteau.

III-3-28a- Clinique.

C'est la REAL classification qui a pour la première fois individualisé cette variété de lymphomes. Les lymphomes du Manteau représentent jusqu'à 5% de tous les LNH.

Les lymphomes développés à partir des cellules du manteau sont dits modérément agressifs mais reste encore incurables avec les traitements actuellement disponibles. La médiane de survie est d'environ 36 mois. Néanmoins, tous les malades décèdent de leur maladie avec moins de 5% de survivants 10 ans après le diagnostic et c'est probablement le type histologique dont la médiane de survie à 10 ans est la plus péjorative.

Ces tumeurs s'observent surtout chez les sujets âgés, avec une nette prédominance chez les hommes.

Des localisations multiples sont habituellement présentes lors du diagnostic (ganglions, rate, anneau de Waldeyer, sang, moelle) ; dans l'intestin elles réalisent un tableau clinique particulier de polypose lymphomateuse.

Le pronostic de cette entité anatomo-clinique est nettement plus sombre que celui des autres lymphomes malins non hodgkiniens du tube digestif (LPTD) comme les lymphomes de type MALT. Cependant jusqu' à sa reclassification grâce aux progrès de la biologie moléculaire, on l'a longtemps assimilé à un lymphome de faible malignité du fait d'une prolifération à petites cellules.

III-3-28b- Analyse cytohistologique.

La population tumorale de cette entité particulière et rare est constituée de cellules lymphoïdes de petites tailles à noyau clivé et regroupées en nodules [**Figure 36**]. Leur chromatine est plus fine que celle des lymphocytes, au sein de laquelle on distingue un nucléole de petite taille. Les cytoplasmes sont réduits et peu visibles.

Par définition ces proliférations ne renferment pas de lymphocytes activés, à cytoplasme basophile. Des histiocytes à cytoplasme abondant sont souvent dispersés dans la prolifération, donnant un aspect en ciel étoilé. La plupart de ces tumeurs sont d'architecture diffuse. Cependant, les tumeurs d'aspect vaguement nodulaire avec follicules lymphoïdes résiduels ne sont pas rares. Dans certains cas, les cellules lymphomateuses ont des noyaux assez réguliers et ressemblent à des lymphocytes. A l'inverse, certaines tumeurs sont principalement constituées de cellules d'aspect blastique dont un fort pourcentage est marqué par l'anticorps Ki-67 (cellules en cycle). Il s'agit de la variante lymphoblastoïde de lymphome du manteau.

III-3-28c- Phénotype.

Les cellules du manteau ont un phénotype particulier puisqu'elles expriment en surface de l'IgM et/ou de l'IgD avec une restriction de chaîne légère généralement kappa.

Comme les lymphocytes B, elles sont CD19+, CD 20+, CD22+ avec pour particularité d'être CD35+ et CD10- et surtout CD5+ qui n'est habituellement observé que sur les lymphocytes T circulants et sur une sous population B normale. Une autre caractéristique des lymphomes du manteau est la présence de volumineux réseaux de cellules folliculaires dendritiques mises en évidence par plusieurs anticorps (CNA.42,CD21). La cycline D1 (ou protéine bcl-1) constitue également un bon marqueur de ces lymphomes, impliquée dans le contrôle du cycle cellulaire et hyperexprimée dans ces proliférations malignes [**Figure 37**].

III-3-28d- Génotype.

La translocation t(11;14)(q13;q32) est retrouvée dans environ 80% des lymphomes de ce type. Cette translocation juxtapose le locus bcl-1 sur le chromosome 11 avec le locus des chaînes lourdes des Ig sur le chromosome 14. Elle provoque une surexpression du gène PRAD1, qui code la cycline D1, qui catalyse l'activité des kinases cyclines dépendantes Cdk4 et Cdk6.

III-3-29- Lymphome de la zone marginale de type MALT ou maltome.

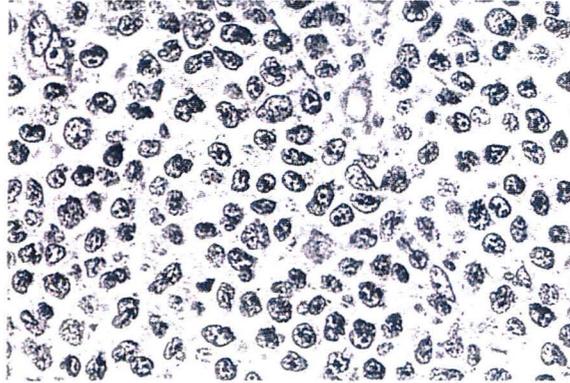
Le concept de lymphomes de type MALT a été initialement proposé et développé en 1983 par Isaacson et Wright. Des arguments morphologiques, phénotypiques et moléculaires sont en faveur du développement de ces lymphomes à partir de la zone marginale des follicules lymphoïdes associés aux muqueuses. Décrit initialement dans le tractus gastro-intestinal (principalement l'estomac), le concept de lymphome de type MALT a été ultérieurement étendu à d'autres lymphomes extraganglionnaires : bronches, glandes salivaires, thyroïde mais également peau, sein, annexes oculaires...

Ces lymphomes sont souvent observés dans des organes normalement dépourvus de tissu lymphoïde, mais ce dernier apparaît dans des conditions pathologiques d'origine auto-immune (syndrome de Sjögren ou thyroïdite de Hashimoto) ou infectieuse (gastrite à *Helicobacter pylori*).

Des lymphomes développés à partir de la zone marginale, mais de localisation primitivement ganglionnaire ont également été décrits (Lymphome B monocytoïde). Cependant ces tumeurs correspondent souvent à des extensions ganglionnaires de lymphomes de type MALT.

Figure 36 . Examen morphologique au MO après biopsie.

D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan

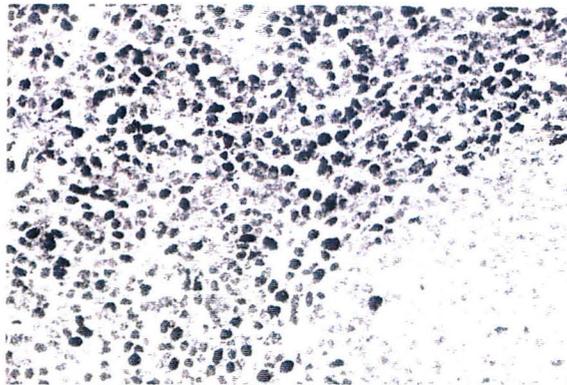


coloration par l'hémalum-éosine x 80

Lymphome du manteau : les cellules sont de petite taille, d'aspect encoché. On n'observe pas de centroblaste mais un réseau dissocié et hyperplasique de cellules folliculaires dendritiques.

Figure 37 . Examen morphologique au MO après biopsie.

D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



immunomarquage par l'anticorps anti-bcl-1 x 50

Lymphome des cellules du manteau : les cellules n'exprimant pas la protéine bcl-1 correspondent à des éléments lymphoïdes résiduels non néoplasiques.

III-3-29a- Clinique.

Les localisations digestives représentent 12,5% de l'ensemble des LNH et sont les plus fréquentes des formes extraganglionnaires de type MALT (36%).

Dans les pays occidentaux, on rencontre surtout des localisations gastriques puis au niveau du grêle et du colon-rectum.

Leur incidence semble augmenter surtout dans leurs localisations primitives au tube digestif, cependant elles restent relativement rares par rapport aux autres tumeurs malignes de même siège. Les LNH primitifs du tube digestif sont importants à connaître compte tenu des possibles espoirs de guérison au stade initial de la maladie.

Quelle que soit la localisation du lymphome, on peut observer trois principaux modes de présentation :

- une symptomatologie floue et peu évocatrice d'une lésion organique ;
- un tableau d'emblée très évocateur d'une atteinte de l'organe ;
- une complication chirurgicale révélatrice du lymphome, souvent précédée d'une période de symptômes non spécifiques (occlusion intestinale, hémorragie..).

Que ce soit pour les MALT de faible ou de haut degré de malignité, l'analyse des facteurs pronostics a été jusqu'à ces dernières années rendue difficile car seules des séries rétrospectives très hétérogènes quant aux diagnostics histologiques et aux traitements étaient rapportées.

Quelques rares études prospectives permettent de mieux évaluer ces facteurs. L'analyse multifactorielle des résultats obtenus dans la série prospective multicentrique nationale du groupe d'étude des lymphomes digestifs, distinguant les LPTD de faible et de haut degré de malignité, a mis en évidence comme facteur de bon pronostic, l'âge inférieur à 65 ans, le stade localisé, le siège gastrique et la possibilité d'exérèse chirurgicale, même incomplète du lymphome. Comme pour les LNH ganglionnaires, l'obtention d'une rémission complète après traitement conditionne la survie.

Il s'agit donc de lymphomes de l'adulte, avec une légère prédominance féminine (F/H :1,5/1).

La majorité des patients se présentent avec une maladie localisée aux viscères (de stade I) ou avec une extension aux ganglions régionaux (stade II).

La dissémination intervient dans 30% des cas, souvent dans d'autres sites extraganglionnaires, après un long interval libre. Les tumeurs localisées sont curables par un traitement local (chirurgie avec ou sans traitement associé). La transformation en un lymphome de haut grade est possible.

Le tube digestif contient à l'état normal du tissu lymphoïde ; follicules lymphoïdes parfois regroupés en plaque de Peyer et cellules isolées dans la partie profonde de la muqueuse et dans la sous muqueuse de l'intestin grêle, du colon, du rectum et de l'appendice.

Ce tissu lymphoïde présente une organisation différente de celle rencontrée dans les ganglions ou la rate. Il appartient au groupe des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses ou MALT. Ces structures favorisent l'entrée élective des antigènes et l'initiation de la réponse immunitaire. Le tube digestif est donc la cible préférentielle des lymphomes extraganglionnaires. Les LNH extraganglionnaires vont donc se développer à partir du MALT, qu'il soit normalement présent dans l'organe (intestin,

poumon) ou acquis au cours d'une inflammation chronique (estomac, thyroïde, glandes salivaires).

Ainsi la relative fréquence de lymphomes gastriques contraste avec l'absence de tissu lymphoïde organisé de type MALT.

Des liens entre *H. pylori* et lymphome gastrique ont été établis sur des arguments d'ordre anatomopathologiques, épidémiologiques et thérapeutiques.

Les résultats de travaux de biologie moléculaire suggèrent que la réponse inflammatoire de l'infection à *H. pylori* et ses conséquences à long terme sont responsables d'une altération de l'ADN.

En réponse à *H. pylori*, les cellules B et T sont recrutées pour former le MALT acquis dans l'estomac. Dans de rares cas, il existe dans l'infiltrat lymphoïde des cellules présentant des altérations géniques favorisant l'expansion d'un clone en réponse aux cellules T activées par *H. pylori*.

L'acquisition d'autres altérations géniques telles les translocations t(1;14) ou t(11;18) ont été retrouvées et certaines non encore caractérisées pourraient expliquer que certains lymphomes de faible degré de malignité puissent disséminer en périphérie. Enfin l'apparition de mutations ou délétions du gène p53 pourrait correspondre à une transformation du lymphome en haute malignité. On reste toutefois frappé par la disparité entre la forte prévalence de l'infection à *H. pylori* dans certaines régions d'Afrique et le très faible taux de lymphomes gastriques.

Si la présence de la bactérie semble nécessaire au développement du lymphome, elle n'est pas suffisante et d'autres facteurs environnementaux, génétiques ou ayant trait à la variabilité des souches entrent probablement en jeu.

Il faut également noter que la maladie des chaînes lourdes alpha (IPSID : immunoproliférative small intestinal disease) représente une variante de lymphome de MALT avec une différenciation plasmocytaire marquée et synthèse de chaînes lourdes alpha, sans chaîne légère. Les rémissions observées sous antibiothérapie dans les stades débutant sont également en faveur du rôle d'un antigène bactérien dans le développement de ces lymphomes.

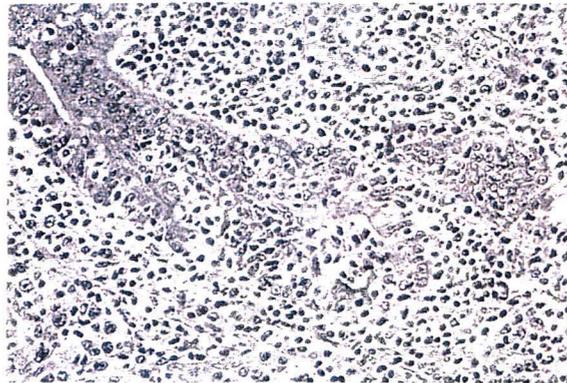
III-3-29b- Morphologie.

Trois faits morphologiques caractérisent ces lymphomes :

- Une prolifération lymphomateuse constituée de cellules d'allure centrocytique de taille petite à moyenne, avec des noyaux irréguliers ressemblant aux centrocytes mais avec un cytoplasme plus abondant et clair. Ces cellules sont comparables à celles observées dans la zone marginale des follicules lymphoïdes.
- Des lésions lymphoépithéliales définies par la présence de nids de cellules lymphomateuses dans l'épithélium, responsables d'une destruction des structures épithéliales. [Figures 38 et 39]
- La présence de follicules lymphoïdes hyperplasiques, souvent colonisés par les cellules lymphomateuses. Cependant, la population lymphomateuse retrouvée dans ces tumeurs peut être variable : prédominance de cellules de type lymphocytaire, cellules B monocytoïdes ou cellules plus volumineuses avec différenciation plasmocytaire. Une augmentation des cellules de grande taille formant de larges amas doit faire évoquer une transformation en lymphomes B diffus à grandes cellules.

Figure 38 . Examen morphologique au MO après biopsie.

D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



hémalun-éosine x 25

Aspect caractéristique d'un lymphome de type MALT gastrique. Les glandes sont pénétrées et détruites par les cellules lymphomateuses (image lymphoépithéliale).

Figure 39 . Examen morphologique au MO après biopsie.

D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



immunoperoxydase sur coupes en paraffine x 12,5

Immunomarquage réalisé avec un anticorps anti cytokératine afin de mettre en relief la destruction et l'infiltration des glandes gastriques.

III-3-29c- Phénotype.

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

III-3-29d- Génotype.

L'existence d'un réarrangement des gènes codant les chaînes lourdes des Ig est présent et peut être utile pour distinguer ces proliférations lymphomateuses de certaines hyperplasies lymphoïdes atypiques.

Une trisomie 3 (60% des cas) ou une translocation t(11;18) ou t(1;14) a été démontré dans quelques cas.

III-3-210- Lymphome splénique de la zone marginale avec ou sans lymphocytes villeux.

Cette variété de lymphome a été individualisée pour la première fois dans la REAL classification.

III-3-210a- Clinique.

Ces proliférations touchent des patients au delà de 50 ans sans prédominance de sexe.

La majorité des patients présentent une splénomégalie habituellement sans adénopathie périphérique. Des lymphocytes villeux sont fréquemment signalés dans le sang et il s'y associe parfois une thrombocytopénie ou une anémie auto-immune. L'évolution est lente et la splénectomie peut être suivie d'une rémission.

III-3-210b- Morphologie.

Ces proliférations sont faites de lymphocytes à noyaux ronds qui entourent les follicules lymphoïdes, effacent la zone du manteau et s'étendent à la pulpe rouge. On observe souvent, en périphérie des follicules lymphoïdes des cellules qui ressemblent aux cellules de la zone marginale avec ça et là des cellules de plus grande taille à noyaux nucléolés. La pulpe rouge présente également des nappes de lymphocytes de petites tailles qui infiltrent souvent les sinus veineux. Les ganglions du hile splénique sont également infiltrés avec une prédominance de cellules de petite taille associées à des cellules plus volumineuses. La biopsie ostéomédullaire est le siège d'une infiltration interstitielle et intravasculaire de diagnostic difficile sur l'examen histopathologique conventionnel.

III-3-210c- Phénotype.

Le profil antigénique pour ces tumeurs est comparable à celui décrit pour les lymphomes de type MALT. (IgM+, CD20+, CD79a+, CD5-, CD23-, CD43-)

III-3-210d-Génotype.

En dehors d'un réarrangement clonal des gènes codant les Ig, aucune anomalie spécifique de la prolifération n'a jusqu'ici été rapportée.

III-3-211- Leucémie lymphoïde chronique B/Leucémie polylmphocytaire

Dans les classifications antérieures, ces tumeurs sont parfois désignées sous le terme de lymphomes lymphocytiques bien différenciés.

III-3-211a- Clinique.

Elle a été individualisée par Ehrlich au sein des leucémies chroniques décrites par Virchow dès 1845, cependant elle a longtemps été quelque peu négligée par les hématologistes.

Sa survenue après la cinquantaine, son évolution lente, la grande variété des aspects cliniques observés, la multitude des complications qui semblaient apparaître de façon imprévisible, la difficulté d'adopter une attitude thérapeutique systématisée justifient sans doute cette attitude.

Les nouvelles techniques immunologiques et en particulier l'utilisation des marqueurs ont permis de mieux classer les multiples facettes de cette maladie. Plusieurs formes anatomocliniques avec chacune une médiane de survie particulière ont pu être définies et ainsi enlever à l'évolution de cette affection tout le caractère imprévisible qui lui était jusque là attaché.

La LLC est la plus fréquente des leucémies de l'adulte, mais cette fréquence est variable puisqu'elle va de 2,5% au Japon à 38% au Danemark.

Ces variations ethniques et raciales peuvent faire penser qu'il existe peut-être des facteurs génétiques dans l'apparition de la LLC. Des anomalies chromosomiques (trisomie 12 et 14q+) et la consanguinité ont été évoquées pour expliquer de nombreux cas familiaux de LLC rapportés ; de plus quelques associations avec des antigènes HLA particuliers ont été identifiées.

De nombreux types de syndromes lymphoprolifératifs ont été fréquemment associés à des infections chroniques, des maladies inflammatoires, des désordres immunologiques mais pour la LLC ce phénomène n'a pas été démontré. De même, il ne semble pas que le rôle de facteurs favorisants comme le benzène et les radiations puisse être reconnu.

Souvent, le patient découvre lui-même des adénopathies superficielles ou bien des complications infectieuses peuvent ouvrir le tableau clinique, plus rarement des complications hématologiques (anémie hémolytique auto-immune).

Mais le plus souvent, c'est au cours d'un examen systématique qu'est notée pour la première fois une hyperleucocytose sanguine chez un sujet apparemment en bonne santé (supérieure à 5000 lymphocytes /mm³).

L'état général est souvent parfaitement conservé au cours de cette maladie, les signes cliniques se résumant aux adénopathies, à la splénomégalie et beaucoup plus rarement à l'hépatomégalie (élément de mauvais pronostic).

Les adénopathies notamment superficielles ont été signalées dès les premières descriptions de la maladie où il était classique d'insister sur leur caractère bilatéral, symétrique, indolent et leur mobilité sur les plans superficiel et profond. La survenue de douleurs, l'apparition de signes de compression devant faire systématiquement rechercher un lymphome secondaire (syndrome de Richter). La tomодensitométrie a permis de mettre en évidence des adénopathies profondes constamment associées aux superficielles.

Le diagnostic différentiel est le plus souvent aisé et l'utilisation des marqueurs de membrane permet de lever les derniers doutes. Si de très rares cas de rémission spontanées ont été rapportées et si une proportion significative de malades reste stable pendant de nombreuses années la maladie tend à progresser et les complications les plus fréquemment rencontrées sont les infections (causes les plus fréquentes de morbidité), les cytopénies et surtout les transformations histologiques.

Une transformation en lymphome B diffus à grandes cellules (syndrome de Richter) s'observe dans 10% des cas et semble avoir une plus grande incidence chez les patients présentant une protéine monoclonale ou de nombreuses anomalies chromosomiques. La réponse de ces syndromes de Richter aux chimiothérapies est faible et la médiane de survie ne dépasse pas quatre mois. Egalement le risque de cancer est plus important chez les sujets atteints de LLC où l'incidence est de 6 à 15% (cancer de la peau et autres types carcinomateux).

III-3-211b- Morphologie.

Ces proliférations sont principalement constituées de lymphocytes de morphologie banale avec des noyaux ronds à chromatine dense [**Figure 40**]. Cependant il existe toujours des zones plus claires faites de cellules de plus grandes taille : les polymphocytes et para-immunoblastes.

Ces zones encore appelées centres prolifératifs, donnent à la prolifération un aspect pseudofolliculaire. L'augmentation du nombre des cellules de grande taille doit faire craindre une évolution plus agressive. Dans les leucémies polymphocytaires B, les noyaux présentent un nucléole en position centrale.

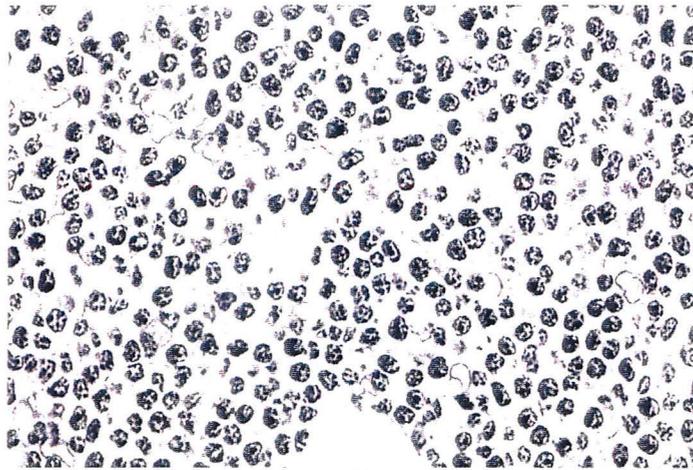
III-3-211c- Phénotype.

Ces lymphocytes présentent plusieurs antigènes B ; CD19, CD20, CD21, HLA-DR, CD79a ce qui leur confère un phénotype de cellules B immatures intermédiaires entre le stade pré-B et le lymphocyte mature.

L'expression de l'antigène T CD5 (dont la présence avait été initialement démontrée par un sérum hétérologue) est une des particularités de ces cellules qui sont également positives pour CD23 et CD25 ce qui révèle qu'il s'agit de cellules activées ou préactivées.

Figure 40 . Examen morphologique au MO après biopsie.

D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



coloration par l'hémalun-éosine x 50

Leucémie lymphoïde chronique : prolifération monotone principalement constituée de lymphocytes de morphologie banale avec des noyaux ronds à chromatine dense.

En pratique la détection de CD23 peut être utile pour différencier ces proliférations de certains lymphomes développés à partir de cellules du manteau.

III-3-211d- Génotype.

Les gènes codant des chaînes d' Ig sont réarrangés et la nature clonale de la prolifération est confirmée.

Les anomalies chromosomiques ont été méconnues dans la LLC jusqu'à ce qu'il soit possible d'obtenir in vitro, la stimulation, la transformation blastique et la multiplication des cellules B grâce à des activateurs cellulaires polyclonaux comme le virus EBV, le phorbol ester, le lipopolysaccharide et le « pokeweed mitogen ».

Ainsi des anomalies chromosomiques ont été retrouvées chez plus de 50% des patients. La trisomie 12 reste l'anomalie la plus fréquente et l'aberration structurale la plus commune affecte le bras long du chromosome 13 au niveau de la bande q14 (locus de l'anti-oncogène du rétinoblastome).

III-4-Lymphomes T et des cellules NK « natural killer ».

La notion de lymphome T est étroitement liée à l'introduction des anticorps monoclonaux. Ils ont permis une identification précise du profil antigénique de ces tumeurs et montré que leur phénotype correspondait le plus souvent à l'un des stades normaux de la différenciation des lymphocytes T.

Ainsi ont été créés les termes de lymphomes des précurseurs T et lymphomes T de type périphérique. Les premiers exprimant des antigènes normalement retrouvés sur les lymphocytes thymiques alors que les seconds possèdent les antigènes des lymphocytes T périphériques.

Les LNH T sont identifiés par des antigènes de différenciation Pan-T (CD2, CD3, CD7), par des antigènes restreints à certains stades de maturation (CD1) ou de différenciation fonctionnelle (CD4, CD8).

Souvent les cellules T néoplasiques n'expriment pas un ou plusieurs des antigènes Pan-T précédents.

Comme dans les cellules lymphoïdes B il existe un réarrangement caractéristique des gènes d'immunoglobulines, dans les cellules lymphoïdes T il existe un même réarrangement caractéristique des gènes du récepteur T pour l'antigène.

On a montré que l'absence d'expression de un ou plusieurs antigènes Pan-T était corrélée à la présence d'un réarrangement clonal du TcR et donc servait indirectement, mais de manière fiable, de marqueur de clonalité. Le phénotype fonctionnel CD4 est beaucoup plus fréquent que le phénotype CD8.

III-4-1- Lymphomes, leucémie lymphoblastique T.

III-41a- Clinique.

Ces tumeurs sont développées à partir des précurseurs T, elles sont à noyaux convolutés ou non.

Elles correspondent aux lymphomes lymphoblastiques reconnus dans les classifications antérieures et que les auteurs anglo-saxons séparent des lymphomes T dit périphériques (ils n'expriment pas CD3 qui n'apparaît qu'à la phase terminale de la maturation lymphocytaire T intrathymique).

Ces tumeurs surviennent surtout chez l'adulte jeune, de sexe masculin. Ce sont des lymphomes de haut grade de malignité.

Elles représentent 40% des lymphomes de l'enfant et 15% des leucémies aiguës lymphoblastiques, sachant que de façon arbitraire la frontière entre lymphome avec envahissement médullaire et leucémie est fixée à 25% de blastes dans la moelle.

Leur habituelle présentation est une masse médiastinale thymique, souvent responsable d'une compression (dyspnée, toux, syndrome cave supérieur) associée à des signes généraux, avec ou non des adénopathies périphériques.

En l'absence de traitement l'évolution est fatale avec envahissement de la moelle, leucémie aiguë et localisation cérébro-méningée.

Il est à noter que ce lymphome est également individualisé comme étant un lymphome cutané T secondaire puisque de façon rare il peut présenter des manifestations cutanées sous forme de tumeurs uniques ou multiples localisées au thorax et/ou au cuir chevelu.

III-4-1b- Morphologie.

Sur le plan histologique, ils réalisent une prolifération diffuse, n'atteignant parfois que partiellement le ganglion, faite de cellules de taille moyenne, à la chromatine fine, au cytoplasme peu abondant et basophile avec de très nombreuses mitoses.

Les attributs cytonucléaires de ces proliférations sont donc souvent comparables à ceux des lymphomes lymphoblastiques B à savoir les mêmes noyaux ronds à chromatine fine, petits nucléoles et cytoplasme étroit. [**Figure 41**]

III-4-1c- Phénotype.

Le phénotype immunologique habituel est de type thymique : CD1+, CD2+, CD3-, T10+. Les cellules tumorales contiennent toujours la « terminale désoxynucléotidyl transférase » TdT.

Cependant selon leur niveau de maturité, elles peuvent exprimer un nombre restreint de CD3 avec une absence combinée de CD4 et CD8.

L'expression du récepteur T est également variable : $\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$ ou absence totale de TcR.

Il semble que les immunophénotypes les plus immatures s'accompagnent fréquemment de leucémies aiguës et que l'expression des antigènes NK (CD16, CD57) soit associé à des formes très agressives.

III-4-1d- Génotype.

Le taux de détection d'un réarrangement des gènes du TcR est variable. Il peut s'y associer un réarrangement des gènes des chaînes lourdes des Ig.

Les anomalies cytogénétiques sont variables mais un réarrangement SCL/TAL-1 s'observe dans environ 25% des cas.

III-4-2- Lymphomes développés à partir de cellules T et des cellules NK.

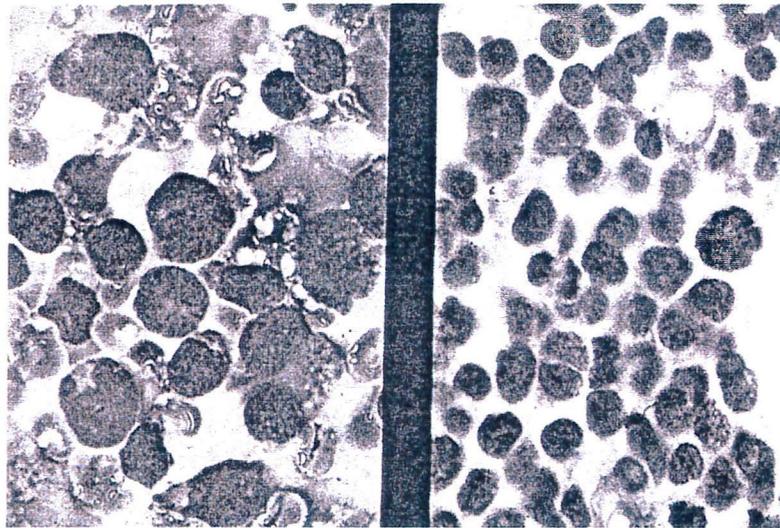
Les proliférations développées à partir des lymphocytes T périphériques sont d'une extrême diversité.

Il peut s'agir de formes leucémiques, de formes avec localisations ganglionnaires prédominantes aussi bien que de formes extraganglionnaires sans oublier les lymphomes cutanés T dont la spécificité clinique a amené à utiliser une classification particulière que l'avènement de l'immunohistochimie associée à la biologie moléculaire a permis d'améliorer considérablement.

Pour les lymphomes/ leucémies historiquement trois types histologiques avaient été individualisés ; les leucémies prolymphocytaires T (T-PLL), l'ATLL (adult T cell leukemia/lymphoma) et les leucémies à grands lymphocytes granuleux, auxquelles ont associé le syndrome de Sezary.

Figure 41 . Examen morphologique au MO après biopsie.

D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



coloration de Giemsa x 100

coloration par l'hémalum-éosine x 80

Figure gauche : Aspect cytologique d'un lymphome lymphoblastique T thymique. Les cellules ont des noyaux irréguliers et des cytoplasmes réduites et basophiles.

Figure droite : Aspect histologique permettant de souligner les irrégularités et les variations de taille des cellules.

III-4-21- Leucémie lymphoïde chronique/leucémie polylmphocytaire.

Dans les classifications antérieures ces tumeurs sont parfois désignées sous le nom de lymphome lymphocytaire bien différencié.

III-4-21a- Clinique.

Il faut d'ores et déjà noter que les LLC T sont très rares (sauf en Asie) mais plus agressives que les LLC B. Elles représentent 2 à 8% des processus lymphoprolifératifs chroniques. Ces formes observées surtout au Japon sont d'ailleurs très particulières car elles sont souvent plus proches des lymphomes non Hodgkiniens que des LLC. Ces variations ethniques, raciales et géographiques peuvent de principe faire également penser qu'il existe des facteurs de risque d'ordre génétique ou infectieux.

III-4-21b- Morphologie.

Les noyaux sont souvent irréguliers, à chromatine épaisse et les cytoplasmes plus clairs que ceux des LLC B. Il existe fréquemment une hyperplasie des veinules postcapillaires et, contrairement aux LLC B, les follicules lymphoïdes peuvent être respectés.

III-4-21c- Phénotype.

La majorité des cas est développé à partir des lymphocytes CD4 (65%) et coexprime les antigènes CD2, CD3, CD5 et CD7. Cependant, quelques proliférations sont de phénotype CD8 ou coexpriment les antigènes CD4 et CD8 (20%).

III-4-21d- Génotype.

Un réarrangement des gènes du TcR est retrouvé dans la majorité des cas. Il est fréquent de noter des anomalies du chromosome 4, Inv 14(q11 ;32) et parfois une trisomie 8q.

III-4-22- Lymphome/ Leucémie à grands Lymphocytes granuleux (LGL).

Ces lymphomes sont parfois désignés sous le nom de syndrome lymphoprolifératif à T γ ou lymphocytose à lymphocytes CD8.

III-4-22a- Clinique.

Les patients se présentent avec une lymphocytose modérée, associée à une anémie et une neutropénie. Dans les cas à phénotypes T il existe une splénomégalie modérée.

III-4-22b- Morphologie.

Il s'agit de lymphocytes à noyaux ronds ou ovales et à cytoplasmes abondants et pâles contenant des granulations azurophiles bien visibles.

III-4-22c- Phénotype.

Deux phénotypes sont possibles :

- à cellules T ; CD2+, CD3+, CD5-, CD7-, CD4-, CD8+, CD16+, CD56-, CD57+/- et TcR $\alpha\beta$ +
- à cellules NK ; Cd2+, CD3-, CD5-, CD7-, CD4-, CD8-/+, CD16+, CD56+/-, CD57+/- et TcR $\alpha\beta$ -.

III-4-22d- Génotype.

Un réarrangement clonal des gènes du TcR est retrouvé dans les cas avec phénotype T alors qu'il est absent dans les cas avec phénotype NK.

III-4-23- Lymphomes/ Leucémies de l'adulte associées au virus HTLV -1. Human T-cell leukemia/lymphoma virus

III-4-23a- Clinique.

L'infection à HTLV-1, rétrovirus de la sous-famille des oncovirus est actuellement lié à la leucémie à cellules T de l'adulte mais également à un syndrome neurologique décrit en 1985 aux Caraïbes, la paraparésie spastique tropicale.

Cette infection sévit donc à l'état endémique dans les régions méridionales du Japon, dans les Caraïbes, en Papouasie Nouvelle Guinée ainsi que dans le sud est des Etats Unis. Les patients présentent toujours des anticorps anti-HTLV-1.

Le virus se transmet par l'intermédiaire de cellules vivantes infectées lors de transfusion, contact sexuel ou par transmission verticale....

Cliniquement, l'infection évolue en plusieurs phases :

- porteur asymptomatique
- forme indolente associant une dermatose chronique à la présence d'un très faible pourcentage de cellules lymphoïdes atypiques
- forme chronique caractérisée par un nombre plus élevé de cellules lymphoïdes atypiques circulantes
- forme aiguë comportant un syndrome tumoral ganglionnaire, hépatosplénique, des localisations osseuses (lésion osseuse lytique) et cutanées, une hyperleucocytose et souvent une hypercalcémie et dont l'évolution est fatale en quelques mois.

Cependant le passage d'un stade à un autre est loin d'être constant et s'effectue selon un rythme très variable.

Le virus HTLV-1 est donc un rétrovirus C à ARN comportant une région *gag* codant pour les protéines centrales (« core ») du virus, une région *pol* codant pour une transcriptase reverse, une région *env* codant pour les protéines d'enveloppe ainsi que d'autres séquences indispensables à l'intégration de l'ADN viral dans le génome de la cellule hôte et sa réplication.

Ce virus pénètre dans les cellules T quiescentes grâce à des récepteurs spécifiques. Ces cellules sont alors activées, ce qui se caractérise par l'expression du récepteur CD 25 de l'IL2. Selon certaines hypothèses, les cellules tumorales produiraient, au moins au stade initial de l'infection, de l'IL2 qui exercerait un effet autocrine sur la prolifération lymphoïde. En revanche les mécanismes conduisant dans un nombre très limité de cas à une évolution de l'infection jusqu'à la prolifération maligne clonale sont très mal connus.

III-4-23b- Morphologie.

Ces lymphomes sont d'un très grand polymorphisme avec un mélange de cellules de petite et de grande taille. Les noyaux sont de taille et de forme variables souvent polylobés et foliés (flower cell). Il est fréquent d'observer des cellules Sternbergoïdes.

III-4-23c- Phénotype.

La majorité des cas est développé à partir des lymphocytes CD4 et coexprime les antigènes CD2, CD3, CD5 et le récepteur pour l'IL2 (CD25).

III-4-23d- Génotype.

Un réarrangement des gènes du TcR est retrouvé dans ces tumeurs qui renferment toujours le génome de HTLV-1.

III-4-24- Mycosis Fungoïde et syndrome de Sézary.

Ils ont longtemps été rapportés avec les leucémies, bien que ce soient des lymphomes malin épidermotropes car ils pouvaient s'accompagner de cellules anormales dans le sang, surtout dans la forme dite de Syndrome de Sézary.

III-4-24a- Clinique.

Le mycosis fungoïde représente 2,2% de l'ensemble des lymphomes mais son incidence s'accroît avec l'âge.

Le syndrome de Sézary, le Mycosis fungoïde sont avec les lymphomes pagétoïdes, les trois lymphomes cutanés épidermotropes (LCTE).

Ce sont la résultante de la prolifération de lymphocytes activés et matures le plus souvent de phénotype CD4, se développant à la fois dans le derme et l'épiderme ou ils forment des thèques.

Le diagnostic de ces lymphomes épidermotropes reposait essentiellement sur l'examen clinique et histopathologique de la peau; de façon plus récente l'immunohistochimie et la biologie moléculaire aident au diagnostic. Elles ont cependant fait évoluer ces notions de lymphome épidermotrope et la classification de REAL les réunit maintenant dans la même entité et la réticulose pagétoïde est même considérée comme une forme particulière de mycosis fungoïde.

■ lésions cutanées du Mycosis fungoïde.

Dans sa forme classique la maladie évolue en trois stades, précédés le plus souvent par un prurit généralisé.

Le premier stade est celui de l'érythème prémycosique où le patient présente des lésions évocatrices d'un parapsoriasis en grandes plaques, stade pour lequel un diagnostic différentiel avec des lésions d'eczéma n'est pas évident, d'autant plus que ces lésions peuvent régresser spontanément et/ou ce stade clinique peut persister sans signe d'évolutivité pendant des années.

Au deuxième stade, les plaques s'infiltrant de manière parfois diffuse mais le plus souvent en bordure ou se forme un bourrelet rouge foncé donnant un aspect serpigineux à la lésion. [**Figure 42**]

Cette infiltration est associée à une accélération de l'évolution du LCTE, avec dans un délai variable mais souvent inférieur à trois ans le développement de tumeurs.

Le troisième stade est donc l'apparition de nodules tumoraux sous les plaques infiltrées, mais également en peau saine. Le prurit diffus est toujours intense à ce stade. [**Figure 43**]

■ Lésions cutanées du Syndrome de Sézary.

Il associe une érythrodermie sèche ou oedémateuse, infiltrée à la palpation avec un prurit intense [**Figure 44**], des adénopathies diffuses assez volumineuses et la présence de lymphocytes activés dystrophiques dans le sang périphérique portant le nom de cellules de Sézary.

L'évolution des LCTE est variable, mais une généralisation polyviscérale est possible, avec un risque de transformation en un lymphome à grandes cellules.

Une association avec une maladie de Hodgkin ou une papulose lymphomatoïde a été rapportée.

Dans le mycosis fungoïde la durée de survie moyenne est de 10 ans et très peu de patients meurent actuellement des formes cutanées localisées.

L'évolution est en revanche plus rapide dans le syndrome de Sézary avec une moyenne de survie inférieure à trois ans.

III-4-24b- Morphologie.

Dans les cas typiques, l'infiltrat a une topographie caractéristique dans la peau, siégeant dans le derme superficiel.

Les lymphocytes infiltrent l'épiderme, réalisant l'épidermotropisme caractéristique.

Les cellules peuvent être isolées ou former un amas donnant le classique abcès de Pautrier. [**Figure 45**]

La prolifération est faite de cellules de petites tailles dont le noyau est cérébriforme. Des cellules comparables sont retrouvées dans le sang, cellules de Sézary circulantes.

III-4-24c- Phénotype.

Le mycosis fungoïde et le syndrome de Sézary ont le plus souvent un phénotype comparable ; CD2+, CD3+, CD5+ et les cellules sont en général de phénotype CD4+/CD8-.

Exprimant donc la majorité des antigènes présents sur un lymphocyte T mature un diagnostic différentiel avec des infiltrats réactionnels pourrait s'avérer difficile, mais il a été montré que l'infiltrat lymphocytaire des LCTE exprime l'antigène myélomonocytaire CD13.

III-4-24d- Génotype.

Il existe en général un réarrangement des gènes codant le TcR α . Une implication du virus HTLV-1 a été invoquée dans quelques cas.

Figure 42 . Mycosis Fungoïde au stade de plaques infiltrées.



Figure 43 . Mycosis Fungoïde au stade de tumeur.



Figure 44 . Maladie de Sézary.



Figure 45. Infiltration Lymphomateuse sous épidermique et abcès de Pautrier.
D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



hémalum-éosine x 5

■ Pathogénie.

Actuellement les LCTE sont considérés comme la résultante d'une stimulation antigénique chronique in situ au niveau de la peau, aboutissant à l'isolement de clones cellulaires malins .

Le développement cellulaire serait favorisé par des facteurs immunomodulateurs in situ, comme des interactions entre les cellules tumorales et les kératinocytes ou encore avec les cellules réactionnelles.

Ces interactions étant médiées par la production de cytokines (augmentation de la production d' IL1 par les kératinocytes dans les LCTE) favorisant l'épidermotropisme et entretenant l'activation cellulaire ainsi qu'une réaction inflammatoire locale.

On a également rapporté comme facteur antigénique pouvant favoriser le développement des LCTE des agents chimiques rencontrés notamment dans l'environnement du travail ou des prises médicamenteuses (aucun travail concluant n'ayant été publié à ce jour).

Une similitude clinique entre les LCTE et le lymphome leucémique a fait émettre l'hypothèse d'un rôle de HTLV-1 ou un virus apparenté dans l'oncogénèse des LCTE.

De façon très récente et d'une manière similaire à la maladie de Hodgkin, le rôle des virus du groupe Herpes a également été soulevé. Si de l'ADN d'EBV a été isolé dans des lésions cutanées de LCTE, si HTLV-5 a été isolé dans un cas de mycosis fongoïde, si Hall et Coll ont démontré l'intégration dans l'ADN de lymphocytes de patients atteints de mycosis fongoïde d'une partie du provirus HTLV-1, leur rôle possible reste à définir.

III-4-25- Lymphomes T périphériques CD30-

Lymphome de la zone T ou lymphomes T sans spécification

Ils s'intègrent mal dans les différentes classifications. La formulation internationale de travail les identifie mal, la classification de KIEL a choisit de les mettre à part, mais il s'agit d'une distinction que les cliniciens discute puisqu'elle leur semble rassembler sans aucune corrélation clinique des entités de haut et de faible grade de malignité.

C'est en effet en se basant sur la morphologie des cellules néoplasiques que la classification de KIEL a individualisé sous le terme de Lymphomes T périphériques sans spécificité des entités peut être différentes.

III-4-25a- Clinique.

Là encore ils sont observés avec une plus grande fréquence en Asie qu'en Europe et aux Etats Unis où ils représentent moins de 20% des LNH. Ils surviennent chez l'adulte âgé, on peut retrouver des formes HTLV1+.

C'est un lymphome pouvant avoir une expression cutanée avec des lésions sous forme de nodules rouges ou violacés, fermes, voire durs à la palpation.

Contrairement aux LCTE, ils ne sont alors jamais accompagnés de prurit.

Si leur pronostic est très variable la présence d'un pourcentage de cellules en cycle supérieur à 60% serait péjoratif. En particulier, les rechutes sont plus fréquentes que dans les Lymphomes B de même grade histologique.

III-4-25b- Morphologie.

Ces tumeurs sont typiquement constituées par un mélange de cellules avec tous les intermédiaires entre cellules de grande et de petite taille à noyaux irréguliers. Selon la population prédominante, on distingue des lymphomes T à cellules de taille moyenne, mixtes et à grandes cellules [**Figure 46**].

Une composante non néoplasique faite de macrophages, d'éosinophiles et dans quelques cas de cellules épithélioïdes, caractéristiques du lymphome épithélioïde T de Lennert peut être observée.

Dans certains cas, la prolifération laisse persister des follicules lymphoïdes et se développe principalement dans les zones paracorticales, d'où les qualificatifs de lymphomes des zones T (classification de Kiel).

Des cellules atypiques ressemblant aux cellules de Reed-Sternberg peuvent aussi s'observer et être responsables de difficultés diagnostiques avec une maladie de Hodgkin.

III-4-25c- Phénotype.

Ces tumeurs expriment donc plusieurs antigènes T ; CD2, CD3, CD5, CD7 mais il n'est pas rare que un ou plusieurs antigènes T soient absents (trou phénotypique). [**Figure 47**]

Le phénotype CD4 est plus fréquent que le CD8 ; quelques cas étant CD4-/CD8- ou à l'inverse double positif.

III-4-25d- Génotype.

Un réarrangement clonale des gènes du TcR est généralement retrouvé mais il est inconstant.

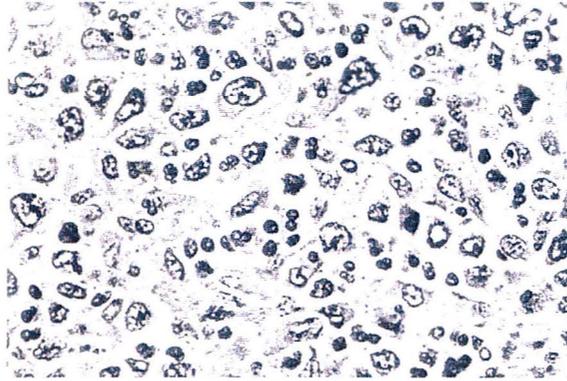
III-4-26- Lymphomes T périphériques CD30+/Lymphomes anaplasiques à grandes cellules.

Lymphome anaplasique à grandes cellules Ki 1

Ces LNH ont en commun l'expression par les cellules tumorales de l'antigène CD30, reconnu par l'anticorps monoclonal Ki 1 initialement produit à partir de la cellule de Reed-Sternberg.

Le concept des « histiocytoses malignes », essentiellement basé sur des données morphologiques, n'a pas résisté au développement des techniques immunohistochimiques et de biologie moléculaire. Ces dernières années, il est

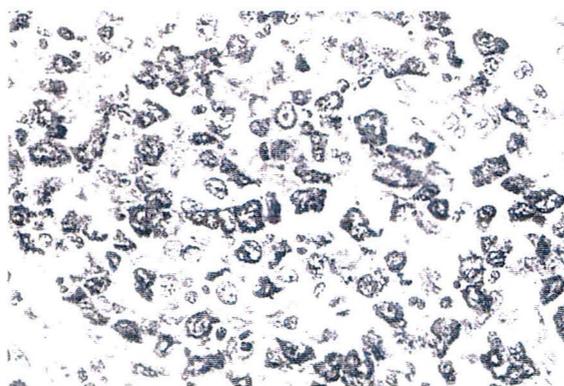
Figure 46 . Aspect histologique d'un Lymphome T périphérique sans spécification.
D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



coloration par l'hémalun-éosine x 50

On note le pléomorphisme de taille et de forme des cellules lymphomateuses associant des cellules lymphoïdes réactionnelles et des polynucléaires éosinophiles.

Figure 47 . Aspect histologique d'un Lymphome T périphérique sans spécification.
D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



immunopéroxydase sur coupe en paraffine x 80

Immunomarquage avec l'anticorps anti CD 3.

apparu que la plupart des tumeurs considérées comme des histiocytoses malignes ne correspondaient pas à des proliférations histiocytaires mais à des tumeurs lymphoïdes de morphologie particulière : les lymphomes anaplasiques à grandes cellules.

L'individualisation de ces lymphomes également appelés Ki 1+ est le fruit des progrès réalisés grâce au développement des techniques immunohistochimiques et aux anticorps monoclonaux. Leur phénotype se caractérise par la présence de plusieurs antigènes dits d'activation et l'absence habituelle de marqueur histiocytaire. Les auteurs de la REAL classification considèrent que seuls les lymphomes anaplasiques à grandes cellules de phénotype T ou nul correspondent à une entité.

III-4-26a- Clinique.

Ces lymphomes anaplasiques sont des tumeurs assez rares (5 à 8% des lymphomes), ils surviennent à tout âge mais prédominent chez l'enfant et l'adulte jeune, ce sont des tumeurs agressives mais curables et cela d'autant plus qu'elles se développent chez le jeune enfant.

Ils n'ont pas de présentation clinique particulière, la majorité des patients présente des lésions ganglionnaires localisées ou généralisées souvent associées à des signes généraux.

L'atteinte médiastinale semble plus rare que dans les autres lymphomes malins, en revanche des localisations cutanées sont souvent signalées.

En effet les lymphomes cutanés T CD30+ isolés sans autre manifestation viscérale représentent un groupe particulier de lymphomes cutanés très récemment individualisé.

Sur un plan clinique, ils se présentent sous la forme de nodules fermes brun violacés, ulcérés dans la majorité des cas, isolés ou regroupés siégeant souvent sur un membre et pouvant avoir des épisodes de régression spontanée avant de persister voire de s'étendre. Ces lymphomes cutanés CD30+ ont un meilleur pronostic que les lymphomes cutanés T CD30- avec une médiane de survie supérieure à 80% à 4 ans. On distingue actuellement dans les lymphomes cutanés T CD30+, trois types de lésion :

- La papulose lymphomatoïde
- les lymphomes anaplasiques cutanés primitifs
- des lésions frontières difficiles à classer.

Les relations de ces tumeurs avec les lymphomes anaplasiques de localisation ganglionnaire sont encore très discutées.

Les similitudes retrouvées sur la plan histologique et immunohistochimique entre le lymphome cutané T CD30+ isolé, la papulose lymphomatoïde et la maladie de Hodgkin faisant même suggérer que ces trois affections constituent différents aspects d'un même groupe de lymphomes ayant comme point de départ le lymphocyte T.

III-4-26b- Morphologie.

Selon l'aspect de la prolifération, plusieurs formes peuvent être distinguées. Dans la forme la plus courante (type commun), la tumeur est faite de cellules de grande taille avec des noyaux très pléomorphes, souvent en « fer à cheval » et excentrés ; des cellules multinucléées, avec des noyaux disposés en couronne, sont assez caractéristiques de ces tumeurs.

Quelques éléments ressemblant à des cellules de Reed-Sternberg sont aussi présents. [**Figure 48**]

L'autre particularité de ces tumeurs est d'infiltrer les sinus lymphatiques, simulant une prolifération métastatique.

Un deuxième type de lésions a été décrit sous le nom de forme lymphohistiocytaire. Les cellules tumorales sont comparables à celles qui viennent d'être décrites mais elles sont minoritaires par rapport à la population histiocytaire de nature réactionnelle.

Deux autres formes sont reconnues, l'une dite « variante à petites cellules », l'autre au contraire riche en cellules tumorales de très grande taille (forme à cellules géantes).

Les lymphomes anaplasiques peuvent simuler une maladie de Hodgkin (forme hodgkinoïde). Cette dernière forme est très difficile à différencier d'une vraie maladie de Hodgkin mais la tendance actuelle est de considérer qu'il s'agirait d'authentiques maladies de Hodgkin riches en cellules tumorales.

III-4-26c- Phénotype.

Le diagnostic de lymphome anaplasique ne peut être fait en l'absence d'une étude immunohistochimique.

Par définition les cellules tumorales expriment le marqueur CD30. Il s'agit de l'antigène Ki-1, antigène d'activation (absent sur les lymphocytes non stimulés) qui est également exprimé par les cellules de Reed-Sternberg.

L'expression de cet antigène n'est pas suffisante pour porter le diagnostic de lymphome anaplasique à grandes cellules. La détection de l'EMA, qui est noté dans la majorité des cas, est aussi utile au diagnostic.

En dehors de la coexpression des antigènes CD30 et EMA, ces tumeurs possèdent le récepteur pour l'IL2 (CD25+) et l'antigène d'activation CD70.

Environ 50% de ces tumeurs réagissent avec l'anticorps BNH.9 qui reconnaît les antigènes de groupe sanguin H et Y. Il faut noter que l'antigène leucocytaire commun (LCA :CD45) n'est que très faiblement exprimé par les lymphomes anaplasiques mais également la détection de la protéine hybride NPM/ALK (nucléophosmine/anaplasique lymphoma kinase) [**Figure 49**].

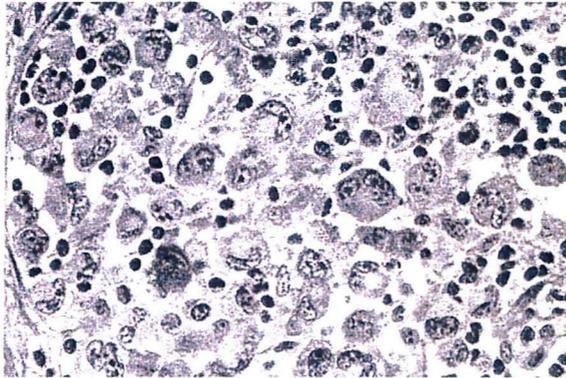
Elles expriment également plusieurs antigènes T : CD3, CD43, CD45, CD4 ou CD8.

L'indice de prolifération défini par l'anticorps monoclonal Ki67 est en général élevé.

Enfin la chaîne β du TcR a été détectée au niveau des cellules tumorales.

Figure 48 . Aspect cytologique.

D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan

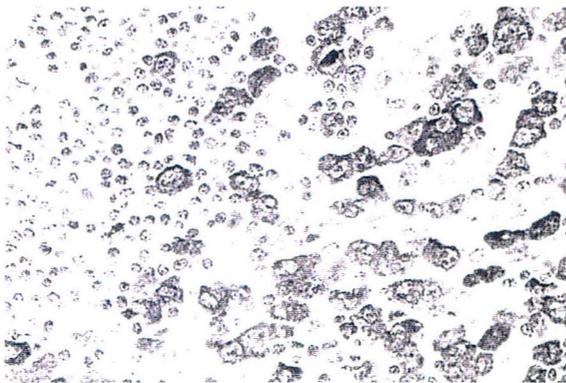


coloration par l'hémalum-éosine x 80

Cellules de grande taille, noyau réniforme excentré avec quelques éléments binucléés rappelant les cellules de Reed-Sternberg.

Figure 49 . Examen morphologique au MO après biopsie.

D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



immunoperoxidase sur coupe en paraffine avec l'anticorps ALK1 x 80

immunodétection de la translocation t (2 ; 5) par mise en évidence de la protéine NPM/ALK.

III-4-26d- Génotype.

Un réarrangement des gènes codant le TcR est détecté dans environ 50 à 60% des cas. L'analyse cytogénétique met en évidence dans les cas typiques une translocation t(2 ;5) impliquant le gène NPM, sur le chromosome 5 et un nouveau gène (ALK) sur le chromosome 2, codant pour un nouveau récepteur tyrosine kinase. Le gène hybride NPM/ALK est transcrit en ARNm hybride, lui même traduit en protéine hybride. Actuellement il est possible de détecter la protéine hybride associée à la t(2 ;5) par immunohistochimie à l'aide de l'anticorps ALK1. Récemment un nouveau type de lymphomes malins simulant un lymphome anaplasique a été décrit. Dans ces tumeurs, les cellules tumorales expriment la totalité du récepteur ALK et non sa forme tronquée.

III-4-27- Lymphome T intestinal.

Ce type de prolifération a également été individualisée dans la REAL classification, dans le passé ces lésions avaient été désignées sous le terme d'histiocytose maligne de l'intestin.

III-4-27a- Clinique.

Les lymphomes T intestinaux sont donc des maladies relativement rares, connues depuis peu.

La plupart des données disponibles de la littérature le sont sous forme de cas cliniques isolés et les renseignements sur le mode de présentation clinique, les traitements reçus et la survie sont disparates.

Le pronostic semble cependant plus sombre que pour les lymphomes B intestinaux. Les malades sont souvent des adultes présentant des douleurs abdominales associées à une perforation et le risque semble augmenter dans les cas de maladie coeliaque surtout lors d'une non adhésion au régime sans gluten.

III-4-27b- Morphologie.

Ces proliférations se présentent sous forme d'ulcérations multiples du jéjunum avec parfois perforation.

Elles sont constituées par des cellules lymphomateuses de taille variable, parfois de type anaplasique et fréquemment associées à de nombreux lymphocytes intraépithéliaux dans la muqueuse de voisinage qui peut être ou non atrophique.

Il s'agit d'un lymphome de haut grade de malignité, le plus souvent polymorphe à grandes cellules, parfois à moyennes cellules.

III-4-27c- Phénotype.

Le profil antigénique de ces tumeurs est souvent comparable à celui des lymphocytes intraépithéliaux : CD3, CD7, CD8+/-, CD4-. Par ailleurs ces cellules expriment un antigène particulier (CD103 ou HML-1 *human mucosal lymphocytes*) propre aux lymphocytes des muqueuses.

III-4-27d- Génotype.

Réarrangement des gènes de la chaîne β du TcR.

III-4-28- Lymphome T de type lymphadénopathie angio-immunoblastique. (LAI)

Les lymphomes T de type lymphadénopathie angio-immunoblastique ont été initialement considérés comme une réaction immunitaire anormale.

III-4-28a- Clinique.

Il s'agit d'une affection relativement rare.

La LAI a été décrite par Frizzera comme comportant une polyadénopathie, une hépato-splénomégalie, une altération fébrile de l'état général, une hypergammaglobulinémie polyclonale et une anémie hémolytique à test de Coombs positif.

La nosologie de cette maladie est longtemps restée inconnue et on la souvent considérée comme un état pré-lymphomateux et plus particulièrement comme un désordre immunitaire B non tumoral.

Cette affection est modérément agressive, cependant une fraction importante de LAI évolue secondairement vers un lymphome de haut degré de malignité au pronostic très péjoratif.

III-4-28b- Morphologie.

Il s'agit de lymphomes T périphériques dans lesquels la composante néoplasique est mélangée, même parfois masquée par des modifications complexes comportant une prolifération vasculaire, des cellules épithélioïdes, des plasmocytes, des éosinophiles et des follicules lymphoïdes déshabités (burn out), uniquement constitués de réseaux hyperplasiques de cellules folliculaires dendritiques. Les cellules néoplasiques sont de morphologie variable incluant des cellules claires avec des noyaux irréguliers et des cytoplasmes abondants et pâles.

III-4-28c- Phénotype.

La population prédominante est constituée de cellules de phénotype T (CD2+, CD3+), habituellement CD4+. L'étude immunohistochimique révèle des réseaux hyperplasiques de cellules folliculaires dendritiques qui sont un des critères de ce type de tumeurs. Quelques immunoblastes B (CD20+) ponctuent également la prolifération.

III-4-28d- Génotype.

Il existe un réarrangement clonal des gènes des chaînes β et/ou γ du TcR. Des anomalies chromosomiques (trisomie 3 et ou 5) ont été rapportées dans quelques cas.

III-4-29- Lymphome NK/T nasal et de type nasal.

La majorité de ces tumeurs correspond à l'ancien « granulome facial malin »

III-4-29a- Clinique.

Les lymphomes de ce type se rencontrent également essentiellement en Asie bien qu'ils puissent aussi s'observer en occident. Il s'agit souvent d'adultes et les hommes sont plus touchés que les femmes. En dehors du nez, d'autres localisations sont possibles (peau, nasopharynx, testicules, tube digestif...).

Dans les localisations nasales la prolifération tumorale est très destructrice et au cours de l'évolution d'autres localisations extraganglionnaires peuvent apparaître. Il s'agit souvent de tumeurs agressives et certaines formes sont difficiles à différencier des leucémies à cellules NK.

III-4-29b- Morphologie.

Quel que soit leur siège (nasal ou extranasal) ces lymphomes sont de morphologie comparable. Il s'agit de proliférations d'architecture diffuse ayant une nette tendance à infiltrer et à détruire la paroi des vaisseaux. [**Figure 50**]

Cette tendance rend compte de la nécrose qui accompagne souvent ces tumeurs bien que d'autres facteurs comme les cytokines puissent intervenir. L'aspect cytologique de ces tumeurs est très variable (cellules de petites tailles ou au contraire d'aspect anaplasique) mais les noyaux sont souvent très irréguliers. Sur les empreintes colorées par giemsa, des granulations azurophiles sont fréquemment observées. Des cellules inflammatoires (lymphocytes, plasmocytes, éosinophiles) sont couramment observées et, par leur abondance, peuvent donc simuler un processus inflammatoire.

III-4-29c- Phénotype.

Dans la majorité des cas, les cellules tumorales sont de phénotype NK (CD2+, CD56+). D'autres marqueurs tels que HLA-DR, le granzyme B et la perforine sont détectés.

L'antigène CD3 n'est pas présent à la surface des cellules mais peut être détecté dans le cytoplasme. Les autres marqueurs T (CD4, CD5, CD8) et NK (CD16, CD57) sont en général absent.

III-4-29d- Génotype.

Les gènes codant les récepteurs des lymphocytes T et les chaînes lourdes des Ig ne sont pas réarrangés. Dans la majorité des cas, les cellules tumorales sont infectées de façon latente par EBV qui est clonal et sous la forme épisomique [Figure 51].

III-4-2-10- Lymphomes T extrêmement rares.

■ Lymphomes T simulant une panniculite sous cutanée.

Il se présente sous la forme d'une infiltration sous cutanée par des cellules lymphoïdes atypiques avec nécrose. Ces cellules ont un phénotype T, CD4+ ou CD8+ et TcR β + et sont marqués par l'anticorps TIA1 (protéine des granules cytotoxiques).

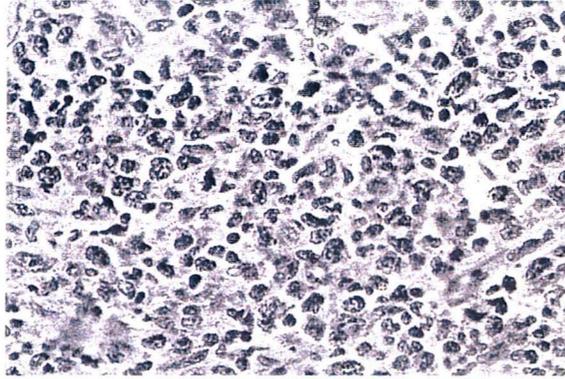
Les patients se présentent avec des nodules sous cutanés qui au début peuvent suggérer une panniculite. Un syndrome d'hémophagocytose est fréquemment noté et de mauvais pronostic.

■ Lymphome γ/δ hépatosplénique.

Ces lymphomes ont une présentation clinique (homme jeune avec hépatosplénomégalie mais sans adénopathie) et un aspect morphologique particulier. Ils sont constitués de cellules de petites tailles ou de tailles moyennes qui infiltrent les sinusoides hépatiques, spléniques et médullaires. Leur phénotype est CD3+, CD56+/-, CD4-, CD8-, CD5-, TcR $\alpha\beta$ -. Elles renferment la protéine contenue dans les granules cytotoxiques reconnus par l'anticorps TIA1. Un isochromosome 7q est noté dans la majorité des cas. Il s'agit de proliférations très agressives avec survie médiane inférieure à 2 ans.

Figure 50 . Examen morphologique au MO après biopsie.

D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan

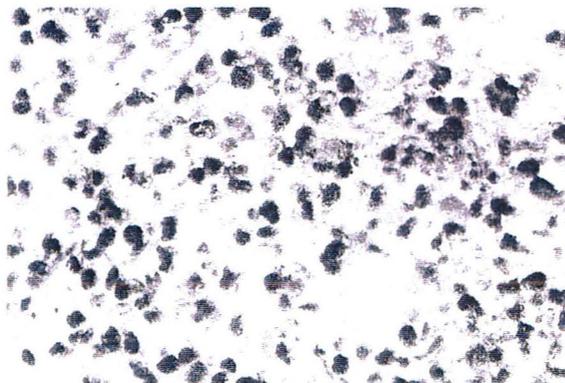


coloration par l'hémalum-éosine x 80

Aspect morphologique illustrant les irrégularités nucléaires des cellules lymphomateuses. Ces lymphomes s'accompagnent souvent d'un angiotropisme responsable de nécroses.

Figure 51 . Examen morphologique au MO après biopsie.

D'après G.Delsol, T. Al Saati Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique CHU Purpan



EBER x 80

Hybridation in situ avec les oligonucléotides EBER détectant des ARN associés à une infection latente par l'EBV. Noter le marquage de la quasi-totalité des noyaux des cellules tumorales.



Chapitre 4- Bilans d'extension d'un LNH et thérapeutiques classiques.

IV- Bilan d'extension d'un LNH.

IV-1-1- Lymphomes non hodgkiniens agressifs.[33-88-112-114-115]

Lorsqu'un diagnostic de LNH a été porté, un « bilan d'extension » est indispensable, il doit être effectué le plus rapidement possible et ce d'autant que l'état général du patient est précaire.

Le bilan d'extension des LNH a été habituellement résumé en utilisant la Classification d'Ann Arbor, dont la valeur pronostique est toutefois moindre que dans le cadre de la maladie de Hodgkin. [**Tableau V**]

Outre l'examen clinique, on effectuera des investigations tomodensitométriques de l'abdomen et du thorax (l'IRM n'a pas une sensibilité supérieure).

La tomodensitométrie est également indispensable pour rechercher les atteintes ganglionnaires ou tissulaires intra-abdominales. En effet la lymphographie ne permet pas d'étudier les ganglions du mésentère et ceux des pédicules hépatique et splénique, souvent atteints au cours des LNH.

L'examen clinique de l'anneau de Waldeyer doit être complété par une radiographie ou une tomodensitométrie du cavum.

La biopsie n'est indispensable que s'il existe une anomalie radiographique.

Au moins une biopsie ostéo-médullaire est indispensable, quel que soit le type histologique du lymphome. Si une première biopsie est négative, une biopsie controlatérale augmente de 5 à 20% la fréquence de positivité.

Avant tout traitement une analyse cytologique du LCR doit être pratiquée dans le but de rechercher une atteinte méningée (observée que dans 5% des patients atteints de LNH). Cette localisation nécessite un traitement spécifique et est de pronostic très défavorable.

Les autres examens (ponction-biopsie hépatique, explorations endoscopiques du tube digestif, scintigraphie osseuse...) ne sont pratiqués que si il existe un point d'appel et si les résultats de l'examen modifient le pronostic d'extension de la maladie.

La fibroscopie gastrique est cependant systématique en cas d'atteinte ORL.

Il importe également de préciser, si possible dans les trois dimensions, les mesures des masses tumorales les plus volumineuses.

La fréquence des stades (Classification d'Ann Arbor) observée sur une série de 433 malades traités pour un LNH à l' Institut Gustave-Roussy de 1984 à 1997 est de :

- 5% au Stade I
- 13% au Stade II
- 53 % au Stade III
- 29 % au Stade IV

Indépendamment du sous-type histologique du lymphome et de facteurs reflétant l'agressivité de la tumeur, d'autres facteurs pronostiques clinicobiologiques ont pu être identifiés et ont fait l'objet d'analyses univariées et multivariées.

Ils reflètent l'effet de la tumeur sur le patient mais aussi la capacité du patient à tolérer un traitement intensif.

De très nombreux paramètres obtenus au diagnostic ont été décrits comme étant prédictifs à des degrés divers de la réponse, de la survie sans progression et de la survie globale.

L'examen clinique complet recherche des signes généraux (amaigrissement, sueurs nocturnes, fièvre) et apprécie, selon une échelle semi-quantitative l'état d'activité du malade qui va constituer un paramètre pronostic important (Performance status (PS) selon l'échelle de l'OMS).

Les examens biologiques, devant être pratiqués dès le diagnostic de lymphome comprennent :

- sérologie du VIH, hépatites B et C.
- taux sérique de LDH et béta-2-microglobulinémie
- calcémie et phosphorémie
- hémogramme complet avec formule leucocytaire.
- ionogramme plasmatique, mesure des enzymes hépatiques.

Plusieurs auteurs ont donc identifié des facteurs ayant une valeur pronostique en analyse multivariée, dans le but d'individualiser des groupes de patients ayant des pronostics homogènes. [**Tableau VI**]

Ainsi une grosse masse tumorale a été décrite comme étant de mauvais pronostic, mais le seuil retenu varie selon les auteurs entre 5 et 10 cm.

La présence de localisations lymphomateuses à plus d'un site extranodal est associé à un mauvais pronostic.

L'atteinte médullaire est retrouvée par la majorité des auteurs comme étant de mauvais pronostic. Cependant, elle est présente au diagnostic chez plus de 70% des patients porteurs d'un lymphome folliculaire, d'un immunocytome ou d'un lymphome du manteau et chez ces patients, elle pourrait ne pas modifier le pronostic.

Dans les lymphomes de haut grade, la présence d'un envahissement médullaire aggrave considérablement le pronostic. Environ 20 à 25 % des patients porteurs d'un lymphome diffus à grandes cellules ont un envahissement médullaire au diagnostic mais ont un taux de réponse plus faible et un pronostic plus sombre. Chez les patients porteurs de lymphomes à grandes cellules, on tend actuellement à distinguer entre les envahissements médullaires à grandes cellules et ceux à petites cellules. Les patients ayant un envahissement à petites cellules ont un risque de rechute plus élevé mais une survie plus longue que ceux ayant un envahissement médullaire initial à grandes cellules.

Les localisations digestives constituent le site extranodal le plus fréquent des lymphomes mais leur valeur pronostique, ainsi que leur traitement spécifique font encore aujourd'hui objet de controverses.

LDH et β 2-microglobuline plasmatique ont été retrouvées comme étant un facteur de mauvais pronostic par la plupart des équipes.

Les symptômes B (amaigrissement de plus de 10%, fièvre prolongée, sueurs nocturnes) sont des paramètres liés entre eux et illustrant l'interaction entre l'hôte et la tumeur. A ceux ci, s'associent également le taux d'albumine sérique et d'hémoglobine sanguine.

Cependant le pronostic dépend également du terrain sur lequel se développe le lymphome. En particulier l'existence de pathologies graves sans rapport avec le lymphome (terrain vasculaire, diabète, corticothérapie au long cours, insuffisance cardiaque) peut influencer le risque de survenue de complications en cours de chimiothérapie et la capacité du patient à tolérer un traitement à visée curative.

L'âge au diagnostic paraît également être un facteur important pour la tolérance du traitement. Le seuil définissant les personnes âgées atteintes de lymphome diffus à grandes cellules est de 60 à 65 ans selon les études.

La comparaison des facteurs pronostiques chez les sujets jeunes et âgés fait apparaître un taux de réponse plus faible et un taux de rechute plus élevé mais ceci est souvent lié à une dose reçue plus faible, chez certains sujets âgés l'administration de chimiothérapies optimales est limitée par la présence de facteurs contre-indiquant l'administration massive de drogues.

En 1990, il a été décidé d'établir un index pronostique international (IPI) pour les lymphomes diffus à grandes cellules. [**Tableau VII**]

Publié en 1993, celui ci retenait cinq facteurs qui sont l'âge, le stade de la maladie, le taux des LDH sériques, les symptômes B, et le nombre de sites extranodaux.

Cet index est prédictif à la fois du taux de réponse complète et du risque de rechute et il constitue un outil pronostique performant pour identifier des groupes de patients ayant des pronostics homogènes.

IV-1-2- Lymphomes non hodgkiniens indolents.[32-79-88-102-112-114-115]

L'index pronostique international proposé pour les lymphomes agressifs peut s'appliquer aux lymphomes de faible grade et permet de discriminer des groupes de pronostic différent. Cependant selon les facteurs de l'IPI, la majorité des malades atteints de LNH indolents a un bon pronostic car rares sont les malades ayant plusieurs facteurs de mauvais pronostics. [**tableau VIII**]

Cependant, on se doit de tenir compte des particularités des LNH indolents (lymphomes folliculaires quel qu'en soit le type histologique, lymphomes du manteau, lymphomes de la zone marginale, lymphomes diffus lymphocytaires) à savoir une évolution vers une transformation en un lymphome de malignité intermédiaire ou élevée et notamment un lymphome diffus à grandes cellules.

L'étude de Stanford rapporte une transformation histologique survenant dans la quasi totalité des cas de lymphome folliculaire avec une incidence annuelle de 8%. Les études autopsiques ont confirmé qu' une transformation histologique était présente chez la quasi totalité des malades décédés d'un lymphome folliculaire.

L'étude menée par Bastion.Y et al montre une incidence de transformation histologique de 24% avec un plateau à 6 ans. Cependant le pronostic des lymphomes folliculaires après transformation est extrêmement grave avec une survie médiane inférieure à 1 an.

Si on peut appliquer l' IPI aux lymphomes folliculaires, le groupe d'étude des lymphomes folliculaires (GELF) a séparé les malades selon des facteurs pronostics établis d'après les données de la littérature et des essais pratiqués dans les années 90 [**Tableau IX**] permettant de séparer deux groupes de malades aux médianes de survie significativement différentes. [**Figure 52**]

L'établissement d'un index pronostique réservé aux lymphomes folliculaires semble indispensable, notamment pour stratifier les malades dans le cadre d'essais thérapeutiques.

Généralités sur les lymphomes non hodgkiniens
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie

Tableau V . Classification de l'extension des LNH dite d' Ann Arbor.

Stade	Définition
I	Atteinte d'une seule aire ganglionnaire (I) ou d'une seule localisation ou territoire extraganglionnaire (I _e)
II	Atteinte de deux aires ganglionnaires ou plus du même côté du diaphragme (II), éventuellement associée à une atteinte extraganglionnaire de contiguïté (II _e)
III	Atteintes ganglionnaires situées de part et d'autre du diaphragme (III), accompagnées éventuellement d'une atteinte splénique (III _s) ou d'une atteinte extraganglionnaire localisée (III _e) éventuellement associée à une atteinte splénique (III _{se})
IV	Atteintes disséminées d'une ou plusieurs localisations extraganglionnaires, avec ou sans atteinte ganglionnaire

L'absence ou la présence de fièvre (au moins 38 °C pendant quinze jours consécutifs sans infection documentée), de sueurs nocturnes ou d'une perte de poids d'au moins 10 % du poids au cours des six mois précédents sont indiquées respectivement par la lettre suffixe A ou B.

Tableau VI . Facteurs associés à l'obtention d'une réponse complète, la survie sans récurrence et la survie globale en analyse univariée.

	Bon pronostic	Mauvais pronostic
Âge	< 60 ans	≥ 60 ans
PS (ECOG)	0 - 1	≥ 2
Symptômes B	Absence	Présence
Stade	Localisé (I-II)	Disséminé (III-IV)
Taille de la tumeur	< 10 cm	≥ 10 cm
Nbre sites extranodaux	0 ou 1	≥ 2
Atteinte médullaire	Absence	Présence
LDH sériques	Normales	Augmentées
β2-microglobuline	< 3 mg/L	≥ 3 mg/L
Albumine sérique	≥ 35 g/L	< 35 g/L

PS : Performance Status ; ECOG : Eastern Cooperative Group ; LDH : lactico-déshydrogénases.

Tableau VII . Valeur pronostique de l'Index International.

Nombre de facteurs	% patients	Taux RC	Survie à 2 ans (%)	Survie à 5 ans (%)
Tous sujets				
0 ou 1	35	87	84	73
2	27	67	66	51
3	22	55	54	43
4 ou 5	16	44	34	26
Sujets de moins de 60 ans				
0	22	92	90	83
1	32	78	79	69
2	32	57	59	46
3	14	46	37	32

Généralités sur les lymphomes non hodgkiniens
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie

Tableau VIII .Valeur pronostique de l'IPI appliquée aux LNH indolents.

Nombre de facteurs pronostiques	Nombre de malades	Survie à 5 ans (%)
0-1	73	78
2	84	63
3	53	42
4-5	19	43

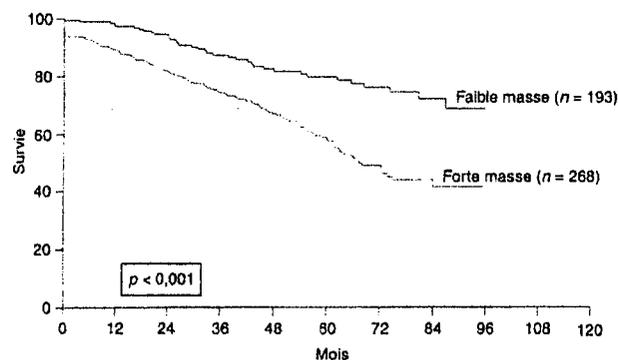
Les facteurs péjoratifs selon l'index pronostique international sont : un âge supérieur à 60 ans, un taux sérique de lactico-déshydrogénase (LDH) augmenté, un indice d'activité ECOG > 2, un stade Ann Arbor III-IV, plus d'une localisation extranodale.

Tableau IX . Facteurs pronostiques des lymphomes folliculaires.

Pronostic défavorable	Pronostic favorable
Architecture folliculaire et diffuse	Architecture exclusivement folliculaire
Sous-type à grandes cellules ou mixte	Sous-type à petites cellules
Index de prolifération élevé	Index de prolifération faible
Anomalies chromosomiques autres que la translocation (14 ; 18)*	Présence exclusive d'une translocation (14 ; 18)
Sexe masculin	Sexe féminin
Âge > 60-70 ans	Âge < 60-70 ans
Stade Ann Arbor III-IV	Stade Ann Arbor I-II
Symptôme(s) B	Absence de symptôme B
Indice d'activité ECOG > 2	Indice d'activité ECOG 0-1
Plus d'une localisation extraganglionnaire	0-1 localisation extraganglionnaire
Masse tumorale > 7-10 cm	Absence de masse tumorale > 7-10 cm
Hépatosplénomégalie	Taille normale de la rate et du foie
Infiltration diffuse de la moelle osseuse	Absence d'infiltration de la moelle ou infiltration mineure
Anémie	Taux d'hémoglobine normal
Taux de LDH augmenté	LDH sérique normale
Taux de β 2-microglobuline sérique augmenté	Taux normal de β 2-microglobuline

* hyperploïdie ou anomalies chromosomiques additionnelles : 6q-, trisomie 3, 7, 12, 18 ou 21.

Figure 52. Survie globale des malades du Groupe d'étude des lymphomes folliculaires selon la masse tumorale.



Cependant il apparaît que la prise en charge des malades atteints de lymphome folliculaire doit tenir compte de plusieurs caractéristiques propres de cette histoire naturelle.

Dans la mesure où tous les malades meurent de leur lymphome, un traitement est nécessaire à un moment ou un autre de l'évolution et une abstention thérapeutique ne peut être que transitoire.

L'espérance de vie de ces malades étant prolongée, la mortalité et la morbidité du traitement initial doivent être aussi modérés que possible.

Le pronostic médiocre après rechute justifie dans ces circonstances des traitements plus agressifs et une transformation histologique doit être recherchée par biopsie des sites tumoraux les plus volumineux et/ou les plus évolutifs.

Les lymphomes du manteau sont une entité rare mais ce sont probablement le type histologique dont la survie à 10 ans après le diagnostic est la plus péjorative (moins de 5%). La médiane de survie dans la plupart des séries est d'environ 36 mois. Il n'y a pas de consensus sur les facteurs pronostiques des lymphomes du manteau. D'après plusieurs études, un mauvais indice d'activité, de multiples localisations extraganglionnaires, un taux élevé de LDH, un âge supérieur à 70 ans, la présence de cellules lymphomateuses dans le sang, une hypoalbuminémie, un taux augmenté de β 2-microglobuline sont des facteurs de mauvais pronostic.

IV-1-3- Bilan d'extension et stades des LNH chez l'enfant.[88]

La classification la plus utilisée chez l'enfant est celle de Murphy. [**Tableau X**]
Les stades étendus sont les plus fréquents, représentant plus de trois quart des cas. Les examens nécessaires au bilan initial pour faire le bilan d'extension sont peu nombreux et peuvent être fait rapidement. [**Tableau XI**]

Ce bilan doit être d'autant plus complet que la tumeur paraît très localisée, mais un bilan général et métabolique s'impose de fait.

Un certain nombre de problèmes directement ou indirectement liés à la tumeur peuvent exister au diagnostic ; Il convient de les repérer, les évaluer et les prendre en charge de façon adaptée, car ils peuvent mettre en jeu le pronostic vital : par exemple asphyxie aiguë par un lymphome médiastinal ou ORL, complications chirurgicales d'un lymphome abdominal, hypercalcémie, insuffisance rénale.

Dans ce dernier cas, le mécanisme se doit d'être précisé (compression pelvienne des voies excrétrices par la tumeur, infiltration rénale tumorale, néphropathie uratique) pour adapter la thérapeutique.

Un syndrome de lyse tumorale (hyperuricémie, hyperkaliémie, hyperphosphorémie et hypocalcémie secondaire) peut exister spontanément au diagnostic, lié à l'importance de la croissance tumorale avec un taux de renouvellement cellulaire très important ; ou sera provoqué par la chimiothérapie.

Tableau X . Classification de l'extension des Lymphomes de l'enfant du « St Jude Children Research Hospital » (Murphy).

Stage	
I (5 %)	- Atteinte d'une localisation ganglionnaire ou extraganglionnaire en dehors de l'abdomen ou du médiastin
II (13 %)	- Deux (ou plus) localisations ganglionnaires et/ou extraganglionnaires du même côté du diaphragme, - ou localisation primitive digestive (le plus souvent de la région iléocaecale) sans ou avec atteinte du 1 ^{er} relais ganglionnaire mésentérique réséquée par chirurgie segmentaire.
III (53 %)	- Localisations ganglionnaires et/ou extraganglionnaires de part et d'autre du diaphragme : - ou tumeur primitive intrathoracique ; - ou localisation abdominale étendue ; - ou tumeur paraspinale ou épidurale.
IV (29 %)	- Atteinte médullaire et/ou du système nerveux central.

la fréquence des stades est celle observée sur une série de 433 malades traités à l'institut Gustave Roussy, de 1984 à 1997.

Tableau XI . Examens nécessaires à la réalisation du Bilan d'extension.

<p>Examens obligatoires</p> <p>Examen clinique Radiographie du thorax et du cavum Echographie abdominale Médullogramme (2 secteurs) Liquide céphalorachidien (cytologie) Numération formule sanguine Lacticodéshydrogénase Bilan ionique incluant uricémie</p>	<p>Examens optionnels, selon le contexte</p> <p>Scanner tête et cou Scintigraphie osseuse Scanner abdominal Résonance magnétique nucléaire crâne et médullaire</p>
---	---

IV-2-Thérapeutique des LNH.

IV-2-1- Traitement, principes généraux.

Jusque dans les années 1970, les Lymphomes avaient un pronostic catastrophique, seulement la moitié des tumeurs localisées étaient guéries par chirurgie et radiothérapie, la majorité des patients et notamment les enfants décédaient en quelques semaines, soit de progression tumorale, soit de progression médullaire ou neuroméningée, depuis les progrès thérapeutiques ont été considérables.

La chirurgie n'a plus d'indication dans le traitement des lymphomes. Sa place est limitée à :

- la biopsie-exérèse d'une tumeur très localisée qui bénéficiera ultérieurement d'un traitement ;
- l'exérèse d'une masse résiduelle lors d'un bilan de rémission ;
- au traitement d'une complication chirurgicale, notamment abdominale.

Bien que le lymphome soit une tumeur radiosensible et radiocurable, la radiothérapie n'a plus sa place dans le traitement d'emblée, car il s'agit d'une thérapeutique locale dans une maladie potentiellement ou effectivement généralisée.

Il reste peut-être de très rares indications de la radiothérapie : irradiation d'une masse résiduelle médiastinale, irradiation du système nerveux central en cas d'atteinte méningée initiale.

Le traitement actuel de ces affections repose essentiellement sur la chimiothérapie, dont l'intensité doit être adaptée à l'âge et aux facteurs pronostiques observés lors du diagnostic. Les lymphomes font donc partie des néoplasies ayant le plus bénéficié du développement des polychimiothérapies.

La chimiothérapie est aujourd'hui capable de guérir un certain nombre d'hémopathies malignes comme les lymphomes non hodgkinien de haut grade mais également les leucémies aiguës ou encore la maladie de Hodgkin.

Durant les dix dernières années des progrès considérables ont été réalisés dans le traitement de ces affections notamment sur les formes agressives et pédiatriques, liés à :

- une meilleure caractérisation des facteurs pronostiques permettant une classification clinique et des traitements adaptés à chaque stade de la maladie.
- une optimisation de la polychimiothérapie notamment grâce à la chronopharmacologie.
- une meilleure connaissance des mécanismes de chimiorésistance.

Il existe cependant un taux plus ou moins élevé de rechute avec les chimiothérapies conventionnelles, ce taux fluctuant selon le type histologique de LNH.

Des intensifications thérapeutiques (chimiothérapie de deuxième ligne faisant appel à des agents non utilisés en première intention) avec autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) sont alors proposées.

Des résultats encourageants obtenus dans des protocoles pilotes d'intensification thérapeutique associant une irradiation corporelle totale (ICT), une chimiothérapie de deuxième ligne et une réinjection de CSH ont été confirmés dans le cadre de programmes plus vastes d'études randomisées telles que le LNH-84.

De nouveaux espoirs de progrès thérapeutiques semblent néanmoins pouvoir être placés dans un élargissement de la pharmacopée anticancéreuse :

- cytokines (interférons, interleukines).
- anticorps monoclonaux.
- facteurs de croissance.

IV-2-2- Chimiothérapie. Les agents cytostatiques.

IV-2-2a- Généralités.

La chimiothérapie (terme énoncé pour la première fois par Ehrlich) est née voici plus d'un siècle à Yale où furent étudiés les premiers agent alkylants suite à l'observation de pancytopenie et d'atrophie lymphoïde succédant à des expositions au gaz moutarde.

Depuis la famille des cytostatiques s'est étoffée [**Tableau XII**], on distingue :

- les agents cycle dépendant qui ne sont actifs que sur les cellules en division et qui interagissent de façon plus ou moins directe avec l'ADN. Ces médicaments sont classiquement dose dépendant et peu ou pas temps dépendant.
- les agents phase dépendant qui n'entrent en jeu que lors d'une étape donnée du cycle cellulaire et en particulier au cours de la phase de synthèse protéique (phase S). Ils interviennent comme antimétabolites ou au niveau du fuseau mitotique. Leur durée d'administration doit être suffisante pour accroître la probabilité d'atteindre toutes les cellules en phase S, leur effet est dose et temps dépendant.

IV-2-2b- Règles de prescription et de surveillance.

La prescription d'une chimiothérapie impose en premier lieu et systématiquement l'élimination de toute atteinte organique contre-indiquant les agents utilisés :

- fonction cardiaque(EGC et/ou échographie)
- fonction hépatique(transaminases)
- fonction rénale (urée et créatinine)
- hémogramme et en particulier le taux de neutrophile et/ou de plaquettes

Lorsque ces données sont insatisfaisantes, elles peuvent conduire à une réduction des doses ou encore à un report de la cure.

Une surveillance médico-infirmière est indispensable pendant l'administration des cytostatiques qui doivent être associés aux traitements adjuvants adaptés : hydratation , antiémétique, antalgique, anti-inflammatoire, corticoïdes...

Ces derniers agents ayant une activité antitumorale propre et pouvant faire partie intégrante du protocole de chimiothérapie (surtout appliqués aux pathologies lymphoïdes).

Généralités sur les lymphomes non hodgkiniens
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie

Tableau XII .Les principaux cytotoxiques.

Agents Alkylants	<u>moutarde azotée</u>	Chlorambucil	Chloraminophène®
		Chlormétine	Caryolsine®
		Cyclophosphamide	Endoxan®
		Ifosfamide	Holoxan®
		Mephalan	Alkeran®
	<u>Aziridine</u>	Mitomycine C	Ametycine®
		Thiotepa	Thiotepa®
	<u>Nitroso urées</u>	Carmustine	Bicnu®
		Fotemustine	Muphoran®
		Streptozocine	Zanozar®
	<u>Organoplatine</u>	Cisplatine	Cisplatyl®
			Cisplatine®
		Carboplatine	Paraplatine®
		Oxiplatine	Eloxatine®
<u>Divers</u>		Busolfan	Myleran®
		Dacarbazine	Deticene®
		Estramustine	Estracyt®
		Procarbazine	Natulan®
Inhibiteurs de la topoisomérase I		Irinotecan	Campto®
		Topotecan	Hycamtin®
Inhibiteurs de la topoisomérase II	<u>Anthracycline *</u>	Daunorubicine	Cerubidine®
		Doxorubicine	Adriablastine®
		Epirubicine	Farmorubicine®
		Idarubicine	Zavedos®
		Pirarubicine	Theprubicine®
		Zorubicine	Rubicazone®
	<u>Antraquinone *</u>	Mitoxantrone	Novantrone®
	<u>Epipodophyllotoxine</u>	Etoposide	Vepeside®
			Etoposide®
			Celltop®
			Etopophos®
	<u>Divers</u>	Amsacrine	Amsidine®
		Dactinomycine	Lyovac cosmegen®
		Elliptinum	Celiptium®
		Bléomycine	Bleomycine®
Antimétabolites	<u>Antagoniste folique</u>	Méthotrexate	Methotrexate®
			Lederthrexate®
		Raltitrexed	Tomudex®
	<u>Antagonistes puriques</u>	6 Mercaptopurine	Purinethol®
		6 Thioguanine	Lanvis®
		Fludarabine	Fludara®
		Pentostatine	Nipent®
		Cladribine	Leustatine®
	<u>Antagonistes pyrimidiques</u>	Cytarabine	Aracytine®
			Cytarbel®
		Gemcitabine	Gemzar®
		5 Fluorouracile	Fluorouracine®
	<u>Hydroxyurée</u>	Hydroxyurée	Hydrea®
Poisons du fuseau	<u>Dérivés des vinca alcaloïdes</u>	Vinblastine	Velbe®
			Vinblastine®
		Vincristine	Oncovin®
			Vincristine®
		Vindesine	Eldesine®
		Vinorelbine	Navelbine®
	<u>Taxane</u>	Docétaxel	Taxotere®
		Paclitaxel	Taxol®
Autres antimétabolites		L-Asparaginase	Erwinase®

* sont également des agents intercalants et des producteurs de superoxyde

Le suivi d'une chimiothérapie doit se poursuivre entre et après les cures concernant les effets éventuellement myélosuppresseurs (fièvre et leucopénie, hémorragie et thrombopénie), les toxicités spécifiques, l'évaluation de la qualité de la vie et la prise en charge psychosociale.

Par ailleurs, il est indispensable d'effectuer un suivi de l'efficacité thérapeutique tant sur le plan clinique que par rapport aux examens complémentaires ; Toute chimiothérapie peut être prescrite à visée curative ou palliative.

■ Calcul des doses.

La surface corporelle exprimée en m^2 est généralement préférée au poids pour le calcul des doses de chimiothérapie à administrer. Ce choix est encore plus justifié pour les enfants, chez lesquels l'index thérapeutique est généralement faible. (par exemple un enfant de 9 kg pèse environ 8 fois moins qu'un adulte moyen de 70 kg alors que le rapport des surfaces corporelles est de $\frac{1}{4}$). Une posologie fondée sur le poids aboutirait donc à un sous dosage.

Cependant ce mode de calcul est loin de faire l'unanimité, ses détracteurs lui reprochent une mauvaise corrélation avec les variations individuelles notamment au niveau des volumes de distribution, des capacités d'absorption notamment digestives, de la métabolisation, des capacités d'élimination et cela d'autant plus pour les obèses.

IV-2-2c- Mécanismes de chimiorésistance.

Outre la chimiorésistance strictement liée au médicament, il existe également des causes liées directement aux caractéristiques de la lymphopathie (hétérogénéité des sous populations cellulaires...) ou encore à l'hôte (facteurs anatomiques).

La chimiorésistance met en jeu des mécanismes biochimiques extrêmement complexes qui ne sont encore pas tous élucidés.

Les mécanismes sous-tendant une chimiorésistance ont été pour la plupart mis en évidence in vitro sur des lignées continues de cellules malignes soumises à différentes concentrations de cytostatiques étudiés.

■ Résistance multidrogue MDR.

Le phénotype MDR est le mécanisme qui a été le plus étudié ces dernières années et qui semble le plus important dans les tumeurs solides et les hémopathies malignes.

Il est lié à l'expression d'un gène appelé MDR 1 situé sur le chromosome 7.

Celui-ci code pour une glycoprotéine P de membrane (P-gp) de 170 kDa.

Cette protéine transmembranaire appartient à la super famille ABC (*ATP binding cassette*) spécialisée dans les transports cellulaires nécessitant de l'énergie. La P-gp agit comme une pompe, expulsant en présence d'ATP les cytostatiques ayant pénétré dans la cellule.

Les drogues concernées par le mécanisme de résistance ont en commun un caractère lipophile et une origine naturelle (végétale ou microbienne). Il s'agit des anthracyclines et de leurs dérivés (mitoxantrone et amsacrine), des poisons du fuseau, des épipodophylotoxines, des taxanes, de l'actinomycine D.

Il est à noter que le gène MDR-1 est exprimé dans de nombreux tissus à l'état normal (cellules intestinales, épithélium tubulaire rénale, canalicule biliaire, utérus gravide, capillaires cérébraux et surrénaux, testicules) ; ces localisations pouvant suggérer un rôle physiologique dans l'élimination de toxiques.

Par ailleurs, ce gène est retrouvé au niveau de 2 types cellulaires normaux du système hématopoïétique ; les progéniteurs cellulaires CD34+ et les lymphocytes en particulier NK.

Il est maintenant établi que l'expression de MDR-1 peut exister d'emblée au diagnostic de lymphomes ou apparaître concomitamment à l'échec thérapeutique. Dans la majorité des cas la détection de MDR est synonyme de mauvais pronostic corrélant avec une moindre chimiosensibilité. Cela est cependant moins évident dans le cas des lymphomes contrairement à d'autres pathologies malignes.

Il est également à noter que in vitro, l'activité de la P-gp peut être modulée par un certain nombre de composés dits « MDR reverseurs ». (calcium bloqueurs, les antagonistes de la calmoduline, des analogues des vinca-alcaloïdes, certaines hormones stéroïdes, des drogues immunosuppressives (cyclosporine A...), certains antibiotiques (céfopérazone, ceftriaxone, érythromycine), dipyridamole, quinidine, réserpine, amiodarone, méthadone...

Ces composés semblent agir par un mécanisme de compétition avec le cytotatique vis à vis de la liaison à la P-gp.

Des protocoles associant un modulateur à la chimiothérapie ont été mis en place, ils se heurtent pour l'instant à la toxicité du modulateur utilisé à forte dose, aux aléas de la pharmacologie et aux autres types de résistance.

La présence de MDR doit inciter le prescripteur à utiliser des drogues non concernées par ce mécanisme de chimiorésistance, par ailleurs la doxorubicine encapsulée dans des liposomes conserve son activité in vitro contre des cellules exprimant P-gp. Des oligonucléotides antisens dirigés contre le gène MDR sont également à l'étude.

■ Résistance liée à l'accumulation intracellulaire de glutathion.

Le glutathion intracellulaire permet une protection des cellules contre l'attaque des radicaux libres générés par la radiothérapie ou certaines drogues telles les alkylants, les nitroso-urées, le cisplatine, l'adriamycine, la bléomycine ou la mitomycine C. Le glutathion est produit grâce à des enzymes et en particulier la glutathion-S-transférase.

■ Résistance aux antimétabolites.

Pour cette classe de cytotatiques, les mécanismes de résistance sont pour la plupart dus à des modifications quantitatives ou qualitatives d'enzymes clés du métabolisme de ces drogues. Citons la baisse de la HGPRT pour la thioguanine, l'augmentation de la phosphatase alcaline pour la mercaptopurine.

■ Résistance par diminution de l'activité de la topoisomérase II.

Cela concerne notamment l'amsacrine, les anthracyclines et les épipodophyllotoxines.

IV-2-2d- Toxicités générales des agents cytostatiques et complications des chimiothérapies.

Il n'y a pas d'égalité : les complications étant très variables selon les drogues, leurs associations, la posologie et le mode d'administration. La sévérité des effets toxiques est également largement influencée par certains facteurs comme l'état général du patient, son âge, des antécédents de chimio ou de radiothérapie, le statut nutritionnel, l'état viscéral associé. Les grades des toxicités sont évalués selon la grille de l'OMS, qui permet d'apprécier l'évolution des complications allant du grade 0 au grade 4. [Tableau XIII]

- Toxicités sur les tissus normaux à renouvellement rapide : Myélosuppression.

Les cellules du système hématopoïétique sont plus que toutes autres sensibles aux agents chimiothérapeutiques. La baisse des différentes lignées est variable dans la profondeur et dans la vitesse de survenue selon les produits utilisés. Seules quelques drogues ne sont pas myélotoxiques (vincristine, bléomycine, méthotrèxate à faible dose). [Tableau XIV]
La baisse des plaquettes ou des leucocytes peut obliger à une réduction des doses.

A toute leucopénie (nadir leucocytaire entre 10 et 21 jours) s'associe un risque infectieux et cela dès que le taux de neutrophiles est inférieur à $0,5 / \text{mm}^3$. Une bonne hygiène buccale (bains de bouche répétés) et l'utilisation de cathéters avec des règles strictes d'asepsie constituent deux mesures préventives essentielles vis à vis des infections. Une neutropénie prolongée (en pratique supérieure à 10 jours) expose le patient à des risques d'infection fongique et en particulier aspergillaires ce qui motive la prise en charge de ces patients en chambres stériles avec flux laminaire. L'introduction des facteurs de croissance granulocytaires (G- et GM-CSF) a ouvert de nouvelles possibilités. Grâce à ces agents, la durée et la profondeur des neutropénies sont réduites. La réinjection de cellules souches sanguines autologues réduit la période de neutropénie consécutive à une chimiothérapie.

Le risque hémorragique, avec un nadir plaquettaire de plus de 1 mois, constitue un effet secondaire moins limitant. Les transfusions sont nécessaires lorsque le taux chute sous la barre des $20 / \text{mm}^3$ pour éviter la survenue d'hémorragies. Le facteur de croissance plaquettaire, la thrombopoïétine est encore en évaluation.

L'anémie n'induit pas un risque vital à l'inverse des deux précédents mais peut détériorer la qualité de vie. Les cytostatiques les plus impliqués sont le méthotrèxate, le busulfan, l'hydroxyurée et le cisplatine, pour cette dernière drogue l'érythropoïétine a permis de diminuer le nombre de transfusion de culots globulaires dans les tumeurs solides ; cependant la solution transfusionnelle reste encore l'option de référence dans presque tous les cas.

Généralités sur les lymphomes non hodgkiniens
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie

Tableau XIII. Cotation OMS des complications des chimiothérapies.

Toxicité	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Hématologique (adulte)					
Hémoglobine	> 11,0 g/100 mL > 6,8 mmom/L	9,5- 10,9 g/100 mL 5,6- 6,7 mmom/L	8,0- 9,4 g/100 mL 4,95- 5,8 mmom/L	6,5- 7,9 g/100 mL 4,0- 4,9 mmom/L	< 6,5 g/100 mL < 4,0 mmom/L
Leucocytes (1000/mm ³)	> 4,0	3,0- 3,9	2,0- 2,9	1,0- 1,9	<1,0
Polynucléaires neutrophiles (1000/mm ³)	> 2,0	1,5- 1,9	1,0- 1,4	0,5- 0,9	< 0,25
Plaquettes (1000/mm ³)	> 100	75- 99	50- 74	25- 49	< 25
Hémorragie	Absence	Pétéchies	Modéré	Modérée	Importante
Gastro-intestinale					
Bilirubine	< 1,25 x N	1,26- 2,5 x N	2,6- 5 x N	5,1- 10 x N	> 10 x N
Transaminases	< 1,25 x N	1,26- 2,5 x N	2,6- 5 x N	5,1- 10 x N	> 10 x N
Phosphatases alcalines	< 1,25 x N	1,26- 2,5 x N	2,6- 5 x N	5,1- 10 x N	> 10 x N
Muqueuse buccale	Sans changement	Douleur	Erythème	ulcération alimentation liquide seulement	Alimentation impossible
Nausées/ vomissements	Absence	Nausée	Vomissement transitoire	Vomissements nécessitant traitement antiémétique	Vomissements incoercibles
Diarrhée	Absence	Transitoire < 2 jours	Tolérable > 2 jours	Intolérable demande traitement	Hémorragique déshydratation
Rénale					
Urémie ou créatinémie	< 1,25 x N	1,26- 2,5 x N	2,6- 5 x N	5- 10 x N	> 10 x N
Protéinurie	sans changement	1+ < 0,3 g < 3 g/L	2,3+ 0,3- 1,0 g 3- 10 g/L	4+ > 1,0 g > 10 g/L	Syndrome néphrotique
Hématurie	sans changement	microscopique	macroscopique	macroscopique + caillots	Anurie
Pulmonaire	sans changement	léger symptôme	dyspnée d'effort	dyspnée de repos	repos au lit complet
Fièvre	absence	< 38 °C	38°C- 40°C	> 40°C	fièvre avec hypotension
Réaction allergique	sans changement	oedème	bronchospasme n'appelant pas réanimation	bronchospasme appelant réanimation	choc anaphylactique
Réaction cutanée	sans changement	érythème	desquamation vésicules prurit	suintement desquamation ulcération	dermatite exfoliative nécrose appelant exérèse
Effet alopeciant	sans changement	perte de cheveux	alopécie modérée par plaques	alopécie complète mais réversible	alopécie irréversible
Infectieuse	absence	mineure	modérée	majeure	choc infectieux
Cardiaque					
Rythme	sans changement	tachycardie sinusale au repos	extrasystole ventriculaire	multifocale P	tachycardie ventriculaire
Fonction	sans changement	asymptomatique mais avec des anomalies	symptômes passagers n'appelant pas traitement	symptômes répondant au traitement	symptômes ne répondant pas au traitement
Péricardite	sans changement	épanchement symptomatique	symptomatique : pas d'indication de ponction	tamponnade : indication de ponction	tamponnade : indication chirurgicale
Neurologique					
Etat de conscience	vigile	assoupissements	somnolence < 50 % des heures d'éveil	somnolence > 50 % des heures d'éveil	coma
Périphérique	absence	paresthésies et/ou diminution des réflexes tendineux	paresthésies /ou faiblesse modérée	paresthésies intolérables et/ou diminution importante de la force motrice	paralyse
Constipation	absence	légère	modérée	météorisme abdominal	météorisme et vomissements intolérable
Douleur	absence	légère	modérée	sévère	

Généralités sur les lymphomes non hodgkiniens
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie

Tableau XIV. Myélotoxicité *

Toxicité	Drogue	Clinique	Traitement
Leucopénie	Vinblastine • Méthotrexate • Cyclophosphamide • • récupération rapide Carmustine •• Mephalan •• •• récupération lente	Fièvre > 38°5 Frissons PN < 500 / μ L	G-CSF <i>Neupogen®</i> GM-CSF <i>Granocyt®</i> <i>Leucomax®</i> en sous cutané de J6 à J12
Thrombopénie	Carmustine Fotemustine Mitomycine C Carboplatine		transfusion concentré plaquettaire
Anémie	Sel de platine		Transfusion EPO <i>Eprex®</i>

* avant toute chimiothérapie réalisation d'une NF : 1500 PN et 12000 plaquettes au minimum

- Toxicités sur les tissus normaux à renouvellement rapide : Alopecie.

Les follicules pileux sont particulièrement sensibles aux chimiothérapies puisque 90% d'entre eux sont en division à un moment donné. La perte des cheveux est temporaire mais la repousse débouche souvent sur une modification de texture (frisure), voire de couleur.

Cette alopecie débute 10 jours après la cure et l'effet maximal apparaît au bout de 1 à 2 mois.

La majorité des drogues sont alopeciantes, en particulier les anthracyclines, les épipodophyllotoxines, les moutardes à l'azote, les poisons du fuseau, la bléomycine. La sévérité de l'alopecie est fonction de la dose mais également de la voie d'administration.

- Toxicités sur les tissus normaux à renouvellement rapide : Mucites.

Bon nombre de cytostatiques provoquent une inflammation, voire des ulcérations des muqueuses aérodigestives (stomatite, oesophagite, gastrite, colite), génitales ou conjonctivales.

Les atteintes digestives hautes peuvent empêcher du fait de la douleur toute prise d'aliment et même de boisson.

Les mucites aérodigestives augmentent le risque infectieux du fait des possibles translocations de germes vers la circulation sanguine (stomatite : streptocoques ; intestins : enterobactéries) et du fait des surinfections locales (levures du genre Candida).

Les mesures générales de prise en charge incluent la prescription de bains de bouche alcalins pluriquotidiens à base d'antifongiques, d'antiseptiques et d'analgésiques.

Un traitement prophylactique par aciclovir peut se discuter étant donné la fréquence des réactivations herpétiques.

L'état buccodentaire avant le début d'une chimiothérapie doit être aussi parfait que possible.

- Nausées et vomissement.

Avant l'arrivée des Setrons, ils comptaient parmi les effets secondaires majeur d'une chimiothérapie et altéraient la qualité de vie des patients et parfois l'efficacité du programme thérapeutique.

Ces réactions sont initiées par le centre du vomissement localisé dans le bulbe, sous l'effet de stimulus pouvant être issus de trois zones différentes : le système vague digestif (la chemotrigger zone au niveau de l'area postrema), le cortex (mémoire) et le système limbique (émotion).

Un classement des cytostatiques en cinq catégories a été proposé en fonction du risque émétisant.

Celui ci est très fort (>90%) pour le cisplatine par exemple et faible pour le cyclophosphamide.

En règle générale, l'allongement de la durée de perfusion diminue le risque. Le sexe féminin, le jeune âge, l'anxiété, l'expérience antérieure de vomissements (chimiothérapie, maladie de transport, grossesse) sont des caractéristiques majorant l'émésis.

L'éthylisme chronique serait en revanche un facteur protecteur.

Trois types de vomissement chemoinduits doivent être individualisés empruntant des voies physiopathologiques distinctes et débouchant sur des traitements différents.

1- Vomissements anticipés obéissant à un réflexe conditionné de type pavlovien chez un patient ayant déjà vomi, les stimuli en cause pouvant être des odeurs, des couleurs, des sons... Les benzodiazépines ont été proposées par certains dans cette indication.

2- Vomissements aigus survenant dans les 24 premières heures et étant directement en rapport avec le cytostatique utilisé. Le médiateur clé de ce phénomène est la sérotonine. Elle est libérée par les cellules entérochromaffines digestives et va se fixer sur les récepteurs 5-HT₃ du vague pour activer directement ou via l'area postrema, le centre de vomissement. Les sétrons qui sont des inhibiteurs des 5-HT₃ ont grandement diminué l'incidence de ce type de vomissements. (ondansetron/Zophren® ; granisetron/Kytril® ; tropisetron/Navoban®)

3- Les vomissements retardés apparaissant plus de 24 heures après la fin de la chimiothérapie ont une physiopathologie plus complexe faisant intervenir la dopamine, une hypokinésie digestive, un œdème cérébral ou un trouble de la perméabilité de la muqueuse digestive. Ils ne sont pas sensibles aux sétrons et la prescription de dérivés antidopaminergiques, d'agents prokinétiques ou de corticoïdes est plus adaptée.

- Réactions d'hypersensibilité.

Toutes les drogues sont capables de provoquer ce genre d'effets indésirables sur un hôte réceptif.

Les signes cliniques sont divers et peuvent être représentés par un urticaire avec prurit, ou un autre type d'exanthème, un œdème, une tachycardie, un bronchospasme avec dyspnée, une hypotension voire un choc anaphylactique.

- Risques liés à l'extravasation des drogues.

L'altération des veines, par la répétition des perfusions ou du fait d'un problème technique durant l'une de celle ci peut entraîner la diffusion de la drogue dans le compartiment extravasculaire.

De ce fait, la recherche d'un abord veineux fiable et de longue durée a fait abandonner l'usage d'un abord veineux périphérique pour un abord veineux central ou des chambres implantables.

Heureusement, relativement peu de drogues sont capables de causer des ulcérations ou des nécroses tissulaires. Il s'agit d'anthracycline (aclaurubicine exceptée), de l'amsacrine, des vinca-alcaloïdes ou des épipodophyllotoxines.

La perfusion doit être immédiatement arrêtée, l'aspiration de quelques millilitres de sang au niveau du site d'extravasation peut être tentée.

On peut également diluer le médicament par l'injection de NaCl isotonique. Le territoire de diffusion doit être délimité à l'encre indélébile. On dispose d'antidotes plus ou moins spécifiques comme par exemple les corticoïdes locaux pour les anthracyclines ou la hyaluronidase pour les vinca-alcaloïdes.

- Complications tardives-Insuffisance gonadique.

Les alkylants sont les agents les plus toxiques sur les gonades. La sévérité de l'atteinte est en générale dépendante de la dose totale et de l'âge du patient, en particulier chez la femme.

Chez celle ci, elle provoque une insuffisance ovarienne progressive et une ménopause précoce nécessitant une substitution hormonale.

Dans le sexe masculin, outre la toxicité sur la spermatogénèse, il peut exister une atteinte des cellules de Leydig productrices de testostérone, responsable d'une baisse de la libido et d'une impuissance.

Les techniques de cryopréservation du sperme et d'ovocytes doivent être systématiquement proposées dans toutes les situations où elles sont réalisables pour des patients avec un désir de procréation.

Des techniques de protection des gonades vis à vis des agents cytotoxiques ont été essayées comme les analogues de la *luteinizing hormone-releasing hormone* LH-RH mettant les ovaire ou les testicules au repos.

- Complications tardives-Néoplasies secondaires.

Ce problème a été d'abord mis en évidence et été étudié après chimiothérapie pour la maladie de Hodgkin. Il est également décrit pour d'autres pathologies telles que le myélome multiple...Les leucémies aiguës chimio-induites peuvent être séparées en deux catégories majeures.

Celles liées aux agents alkylants surviennent classiquement après une latence de 5 à 7 ans et une phase préalable de myélodysplasie. Les anomalies chromosomiques typiques touchent les chromosomes 5 ou 7. Il s'agit en général de patients âgés qui vont avoir un faible taux de réponse à une chimiothérapie d'induction et dont la survie sera brève.

Le deuxième type est constitué par les leucémies aiguës secondaires aux inhibiteurs de la topo-isomérase II. Elles touchent en général des patients plus jeunes et surviennent sans phase préleucémique après un délai plus bref de 6 mois à 5 ans. Les sous types monocytaires sont prédominants. Le caryotype peut objectiver une t(11q23) ou une t(21q22). Les meilleurs taux de réponses ne débouchent pas sur des survies longues.

Le risque relatif leucémogène est accru par la combinaison de plusieurs agents alkylants. La survenue de tumeurs solides est plus rare et est surtout favorisée par la radiothérapie.

- Risques tératogènes.

On doit empêcher la survenue d'une grossesse chez une patiente traitée par chimiothérapie, par la prescription d'une contraception efficace.

Les agents cytostatiques peuvent causer des effets immédiats : avortement spontané, tératogénèse avec un risque maximal au premier trimestre, toxicité d'organes, prématurité, faible poids de naissance ou différés : carcinogénèse, stérilité, anomalie du développement physique ou intellectuel, mutations, tératogénèse dans la descendance.

Lorsqu'une hémopathie maligne apparaît sur une grossesse connue, la stratégie dépend de l'avancement de celle-ci : au premier trimestre une interruption thérapeutique de grossesse peut être proposée, au dernier trimestre si la mise en place de la chimiothérapie n'est pas extrêmement urgente, l'accouchement est déclenché et le traitement spécifique sera débuté après. Dans les cas intermédiaires, la décision est guidée par les caractéristiques de l'hémopathie et par les positions respectives de la mère et du praticien.

IV-2-2e- Principaux protocoles et choix d'une modalité thérapeutique.

IV-2-2e1- LNH indolents, de faible malignité histologique.

A- Traitement des formes localisées, une radiothérapie à une dose de 35 à 40 Gy sur un territoire limité aux aires ganglionnaires atteintes semble efficace. En effet dans les stades Ann Arbor I la radiothérapie peut être la modalité thérapeutique exclusive dans la mesure où les statistiques montrent que plus de 80% des malades demeurent en rémission 10 ans après ce traitement.

En revanche dans les stades II, le taux de rechute à 5 ans atteint 30 à 50%, justifiant d'associer une chimiothérapie ; cela étant d'autant plus vrai qu'il existe des facteurs de mauvais pronostic ; une masse tumorale volumineuse, des signes généraux, une augmentation des LDH sériques.

B- Traitement des formes étendues, les modalités thérapeutiques de ces formes disséminées - qui représentent plus de 70% des lymphomes de faible malignité - demeurent très discutées.

En effet aucune modalité thérapeutique n'est apparue capable de modifier de manière déterminante le pronostic naturel de la maladie. Cependant, il faut garder à l'esprit que le pronostic vital est en jeu chez les patients présentant un lymphome indolent après transformation de celui-ci, la survie médiane est alors de 1 an.

Il n'y a donc pas de recommandation établie concernant ce choix, qui s'étend à l'heure actuelle de l'abstention thérapeutique à la polychimiothérapie en passant par la monochimiothérapie et l'indication de l'interféron alpha.

Ce choix se discute notamment sur l'ensemble des facteurs pronostics ; sous type histologique, âge, LDH sérique, certaines localisations notamment médullaire et hépatique ou tout autre localisation menaçant la fonction d'un organe, cytopénie sanguine, présence de symptômes B.

Abstention thérapeutique.

L'équipe de Stanford a montré par un suivi prospectif qu'une abstention thérapeutique jusqu' à progression symptomatique pouvait être proposée à des malades, atteints de LNH indolent disséminé et notamment de type folliculaire, sélectionnés par l'absence de facteur pronostic péjoratif. Les auteurs ayant même rapporté une incidence de régression spontanée de la maladie de 23%.

Une autre étude comparant une chimiothérapie agressive de type Pro-MACE-MOPP avec irradiation nodale à une abstention thérapeutique n'a pas pu montrer de différence de survie entre les deux groupes au délai médian de suivi de 4 ans.

Monochimiothérapie.

Le chlorambucil et le cyclophosphamide ont été les médicaments de loin les plus utilisés et ce sont mêmes les traitement standards des lymphomes folliculaires.

Cette monochimiothérapie permet l'obtention d'une rémission dans 50 à 70% des cas, après un délai médian de 12 à 18 mois. Cependant la majorité des malades rechute après un délai médian d'environ 30 mois et il n'existe pas de net plateau de survie.

Polychimiothérapie. [Tableau XV]

Le protocole CVP administré selon des modalités variables au cours de multiples essais thérapeutiques a montré qu'il permettait l'obtention d'une rémission dans 65% à 80% des cas après un délai médian de moins de 6 mois. Cependant comme avec la monochimiothérapie, la durée médiane de rémission est de 30 à 36 mois sans net plateau de survie sans manifestation de la maladie.

Le protocole CHOP est le traitement standard des lymphomes agressifs, compte tenu de son efficacité dans ces pathologies, on a proposé son application pour améliorer le pronostic des LNH de faible malignité (lymphomes folliculaires comme LLC).

L'association CHOP se révèle dans le traitement des LLC être une bonne approche thérapeutique bien qu'elle ne donne pas de réponse définitive et ralentisse simplement mais sensiblement l'évolution naturelle de la maladie. La fludarabine monophosphate, dont Grever a rapporté le premier l'efficacité dans les LLC présente une toxicité modérée tout en donnant une médiane de survie sensiblement différente entre les répondeurs et les non répondeurs. La 2-chlorodésoxyadénosine a également été utilisée dans les LLC réfractaires (53% des patients ayant répondu à cette drogue), de plus la diminution secondaire en lymphocytes T semble de plus courte durée que celle induite par la 2-déoxycytosine.

Par la suite la démarche a été étendue à d'autres polychimiothérapies incluant des anthracyclines. L'utilité de tels traitements reste discutée.

Certaines études randomisées n'ont pas montré de différence entre un protocole P-COP et PACOP, dans d'autres LNH indolent et notamment folliculaire, aussi bien en ce qui concerne le taux de rémission (47% vs 43%) que la survie sans manifestation de la maladie.

Tableau XV. Principaux protocoles de polychimiothérapie.

Protocole CHOP J1=J21	Cyclophosphamide :750 Ivj1. Doxorubicine :50 Ivj1. Vincristine : 1,4 IV j1. Predniso(lo)ne :60- 100 per os j1 à j5.
Protocole CVP	Cyclophosphamide Vincristine Prednisone
Protocole P-COP	Procarbazine Cyclophosphamide Vincristine Prednisone
Protocole PACOP	Procarbazine Cyclophosphamide Vincristine Prednisone Doxorubicine
Protocole m-BACOD J1=J22	Methotrexate 200 J8-J15 Bléomycine 10 J1 Doxorubicine 45 J1 Cyclophosphamide 600 J1 Vincristine 1 J1 Dexaméthasone 6 J1-J5
Protocole Pro MACE-MOP J1=J29	Etoposide 120 J1 Cyclophosphamide 650 J1 Doxorubicine 25 J1 Prednisone 60 J1-J8 Cytarabine 300 J8 Bléomycine 5 J8 Vincristine 1,4 J8 Méthotrexate 120 J8
Protocole LNH 87 ACVBP induction J1=J15	Adriamycine 75 IV J1 Cyclophosphamide 1200 IV J1 Vindésine 2 IV J1-J5 Bléomycine 10(dose totale) IV J1 et J5 Prédnisolone 60 per os J1 à J5

doses indiquées sauf indication contraire en mg/m²/J

Polychimiothérapie intensive avec greffe de moelle.

Chez des malades, surtout jeune, ayant un lymphome non agressif devenu résistant à la chimiothérapie conventionnelle, une chimiothérapie intensive avec ou sans irradiation corporelle totale suivie d'une autogreffe de cellules souches périphérique peut être proposé, cependant sa mortalité et sa morbidité incitent à ne pas la proposer en première intention.

Plusieurs questions concernant ces intensifications thérapeutiques restent en suspens.

Quelle est la date optimale pour envisager une intensification thérapeutique, dans quels cas, quel est le meilleur conditionnement pour le greffon ?

Ces questions sont actuellement posées par des essais cliniques proposés par divers groupes coopérateurs comme le groupe du Dana Farber Cancer Institute de Boston.

Place de l'interféron alpha.

Des études de phase II pratiquées dans les années 1975-1980, groupe d'étude des lymphomes folliculaires, avaient montré un taux de réponse de l'ordre de 30 à 40% après traitement par l'interféron alpha, y compris avec les formes chimiorésistantes. Cette efficacité en monothérapie a récemment été confirmée.

Les essais actuels ont démontré la place de l'interféron essentiellement dans deux circonstances ;

- En traitement d'entretien après réponse maximale à la chimiothérapie puisque l'OERTC (organisation européenne de recherche et de traitement du cancer) par une étude randomisée sur des patients atteints d'un lymphome folliculaire montre que la médiane de survie passe de 87 semaines à 120 semaines entre le groupe bénéficiant d'une abstention thérapeutique et celui bénéficiant d'interféron alpha 2a à la dose de 3 MU, 3 fois par semaines pendant un an, les deux groupes étant au préalable traités par chimiothérapie CVP avec éventuellement irradiation des masses tumorales volumineuses.
- En association avec une chimiothérapie conventionnelle, ces essais étant justifiés par la démonstration in vitro ou chez l'animal d'effets additifs ou synergiques entre l'interféron alpha et plusieurs cytotoxiques actifs dans les lymphomes.
Deux études sont importantes. L'étude de l'ECOG a porté sur des malades traités par polychimiothérapie de type CHOP uniquement ou avec de l'interféron alpha donné pendant 5 jours avant chaque cycle de chimiothérapie.
L'essai du GELF où les malades atteints de lymphome folliculaire de forte masse tumorale étaient traités par une chimiothérapie CHVP (CHOP avec demi-dose de Doxorubicine) avec ou sans interféron donné concomitamment pendant 18 mois.
L'essai du GELF est le seul à montrer un bénéfice non seulement de survie sans événement, mais également de survie globale en faveur des patients traités par l'interféron, avantage qui se traduit également en un surcroît de vie de qualité optimale.

IV-2-2e2- LNH agressifs, de haute malignité.

Depuis quelques années les progrès du traitement des LNH agressifs, notamment de la chimiothérapie permettent d'espérer guérir au moins 50% des malades. C'est dire que pour chaque malade il importe de choisir le traitement initial optimal donnant les meilleurs chances d'obtention d'une rémission complète initiale, condition sine qua non pour espérer une guérison ultérieure au prix d'une morbidité minimale.

Traitement des formes localisées ; Dans les stades Ann Arbor I et II, la radiothérapie à la dose de 35 à 40 Gy sur les aires ganglionnaires atteintes permet le contrôle immédiat de la maladie dans plus de 90% des cas.

Cependant, la rechute en territoire non irradié est relativement fréquente, beaucoup plus dans les stades II que dans les stades I. De ce fait la radiothérapie exclusive tend à être abandonnée. Actuellement, la majorité des auteurs préconise un traitement par 3 ou 4 cycles de chimiothérapie- avec plutôt un protocole de première génération dit de type CHOP plutôt qu'un protocole plus agressif de type 3^e génération- suivi d'une radiothérapie. Ces modalités thérapeutiques permettent une survie sans rechute de 80 à 95% à 5 ans sans effet secondaire sévère.

Traitement des formes disséminées.

Chimiothérapie.

La chimiothérapie est l'arme thérapeutique cardinale des LNH. Les premiers progrès sont apparus en 1975 avec le développement des protocoles dits de 1^{re} génération, dont l'association CHOP et les associations apparentées (adjonction de procarbazine, de bléomycine) en sont l'exemple type. Le suivi à long terme des malades traités par de tels protocoles a montré qu'il permettaient d'obtenir un taux de rémission complète de l'ordre de 60% avec environ 30% de survivants à long terme.

Mais pour les LNH agressifs les étapes principales des progrès thérapeutiques se situent là aussi dans l'individualisation des groupes pronostiques afin d'intensifier les polychimiothérapies des malades aux pronostics les moins favorables sans pour autant devoir augmenter la morbidité chimioinduite des patients aux pronostics plus favorables.

Les protocoles dits de 2^e et 3^e générations (LNH 87, Pro MACE-MOP, m-BACOD, PACOP) [Tableau XV] reposent sur les principes suivants :

- augmentation du nombre de drogues d'efficacité démontrée en monochimiothérapie sur les LNH agressifs.
- augmentation de la posologie de médicaments pour lesquels il existe des arguments en faveur d'une relation dose/efficacité (anthracyclines, cyclophosphamide).
- administration dans les intercycles de drogue faiblement myélotoxique (vincalcaloïde, méthotrexate, bléomycine).
- diminution des durées des intercycles (2 semaines au lieu de 3 ou 4).

Concernant ces nouveaux protocoles, d'apparition plus récente, deux faits sont établis :

- par rapport au protocole CHOP, ils permettent d'obtenir un taux de rémission complet supérieur (entre 65% et 80%), un taux de rechute plus faible (20 à 25%) et un taux de survie sans manifestation de la maladie entre 50 et 60% à 3 ans.
- en revanche leur morbidité et leur mortalité sont plus élevées, en particulier en raison d'infections liées à la neutropénie chimio-induite.

Le protocole LNH87 proposé par le groupe d'étude des lymphomes agressifs en est un exemple. Le traitement des malades de bon pronostic est randomisé entre une chimiothérapie de 2^{ème} génération (m-BACOD réalisable en externe) et un protocole de 3^{ème} génération (ACVBP) à priori plus agressif. Les malades de moins bon pronostic sont traités, soit par une chimiothérapie conventionnelle de 3^{ème} génération, soit, après une phase d'induction par une chimiothérapie intensive avec autogreffe de moelle.

Traitement de rattrapage-autogreffe de moelle.

Toutes les études prospectives pratiquées montrent que le pronostic des malades traités par un protocole de chimiothérapie de 3^{ème} génération et non mis en rémission complète est particulièrement défavorable. Moins de 10% d'entre eux ont une survie prolongée. L'efficacité de certains protocoles de rattrapage, comme le protocole MIME, qui a fait naître de nombreux espoirs n'a pas été confirmé. En fait, ici aussi, les seuls résultats notables de traitement de rattrapage proviennent de séries utilisant une chimiothérapie à fortes doses associée ou non à une irradiation corporelle totale avec sauvetage par une autogreffe de moelle, le plus souvent autologue. Plusieurs séries ont été ainsi rapportées qui permettent, schématiquement, d'obtenir au moins 30% de survivants à long terme, ce qu'aucune série antérieure de malades traités par chimiothérapie conventionnelle n'avait permis d'obtenir. Chez les sujets de moins de 55 ans, cette modalité thérapeutique doit donc être systématiquement envisagée en cas de résistance primaire ou de rechute après traitement.

Chez les malades en rémission partielle après traitement d'induction optimal, des études ont également souligné l'intérêt de l'autogreffe de moelle après chimiothérapie à forte dose. Le problème est cependant compliqué par la difficulté qui existe dans certains cas à distinguer une réponse partielle d'une réponse complète lorsqu'il persiste une masse après chimiothérapie. Il n'est en effet pas rare qu'il persiste une masse dite résiduelle, rarement tumorale, plus souvent scléreuse. La réponse partielle peut être confirmée lorsqu'une biopsie ou une ponction sous écho- ou tomodynamométrie montre la persistance de cellules tumorales. Négatif, le prélèvement ne permet pas de conclure formellement. C'est l'absence de tout symptôme, de tout signe clinique anormal, la persistance inchangée de la masse qui permet de conclure in fine à son caractère résiduel.

Chapitre V- Perspectives d'Immunothérapie.

V-1- Introduction.

Dans le traitement des lymphomes non Hodgkiniens, la chimiothérapie conventionnelle ou intensifiée montre actuellement ses limites .

En effet, bien que des progrès importants aient été accomplis dans ce domaine , les résultats de ces dernières années ne montrent pas d'amélioration globale.

La nécessité de trouver des modalités thérapeutiques complémentaires de ces schémas conventionnels est réelle.^[118]

Depuis environ cinq à dix ans, il apparaît que l'immunothérapie constitue l'un des principaux compléments de la chimiothérapie et que l'amélioration du pronostic viendra probablement de leur association.

L'immunothérapie est constituée par l'ensemble des moyens thérapeutiques permettant de corriger les déficits immunitaires et/ou d'amplifier les mécanismes de défense anti-tumorale observés au cours du développement et de l'évolution des lymphomes non Hodgkiniens.

Ces moyens sont très multiples et la place de chacun d'entre eux reste encore imprécise .

V-2- Les anticorps monoclonaux

Actuellement, avec le développement technologique induit par les progrès réalisés en biologie moléculaire ainsi que la maîtrise de leur production par la technique des hybridomes, les anticorps monoclonaux ont trouvé une place dans les traitements immunosuppresseurs . [**Figure 53**]

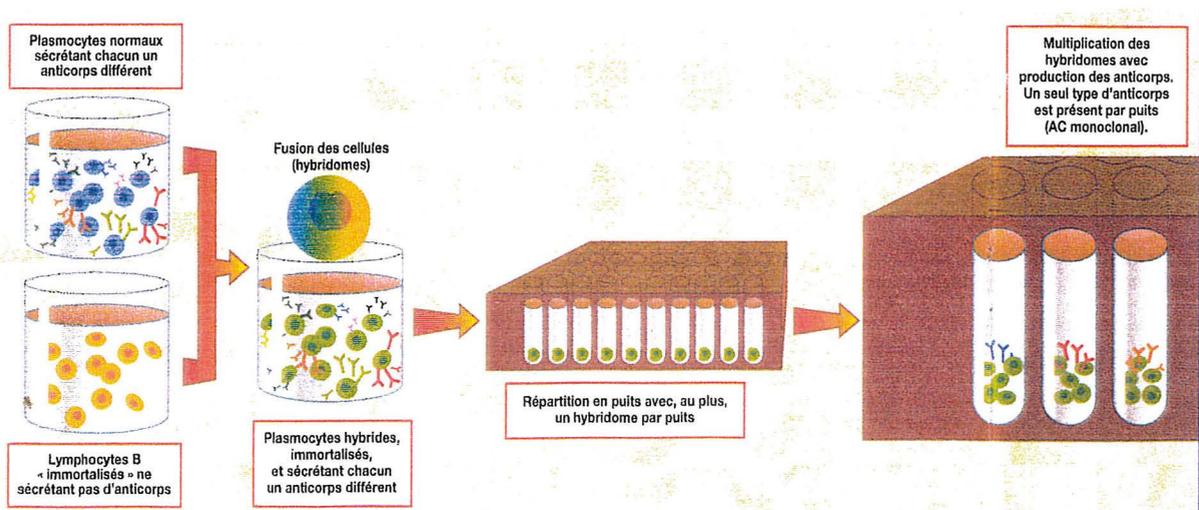
Les champs d'application des anticorps monoclonaux sont d'ores et déjà multiples.

Ils peuvent être utilisés pour le diagnostic grâce à leur capacité de reconnaître une protéine donnée. On peut aussi coupler l'anticorps à un radio-isotope pour obtenir une imagerie sélective de certains organes.

Les AcMo peuvent également être utilisés en thérapeutique pour neutraliser un micro-organisme, une molécule toxique... ou pour bloquer un récepteur.

On peut aussi coupler chimiquement l'anticorps monoclonal à une toxine ou un radio-isotope qui sera acheminé(e) au contact des cibles reconnues par l'anticorps, par exemple des cellules cancéreuses.

Figure 53. Principe général de production des anticorps monoclonaux.



La production des anticorps monoclonaux passe par l'isolement d'un plasmocyte et l'immortalisation de celui-ci afin de le maintenir indéfiniment en culture cellulaire. Pour cela, les plasmocytes sont fusionnés avec des plasmocytes immortels (de myélome). Les cellules hybrides ainsi obtenues sont immortelles et appelées hybridomes. Les anticorps monoclonaux sont produits en quantité importante par les hybridomes et peuvent être récoltés dans le surnageant de culture.

V-2-1- Mécanisme d'action des anticorps monoclonaux

L'anticorps monoclonal peut bloquer, diminuer ou augmenter la fonction biologique propre de l'antigène cible.

Les mécanismes des effets anti-tumoraux induits par les anticorps monoclonaux peuvent être complexes et variés.

Ils peuvent agir directement sur la croissance cellulaire du clone malin en inhibant des phases du cycles cellulaire, en induisant une apoptose cellulaire ou bien en bloquant les récepteurs propres de certaines interleukines, ou encore en activant une réponse immunospécifique médiée par une immunoglobuline.

Une lyse cellulaire par activation du complément, une facilitation de la phagocytose et/ou une cytotoxicité anticorps dépendante font aussi partie des mécanismes d'action des anticorps monoclonaux .

Cependant, les résultats initiaux des premiers traitements anticancéreux par anticorps monoclonaux sont apparus décevants et ce pour plusieurs raisons^[117]:

■ le choix des antigènes :

Ils constituaient de mauvaises cibles soit parce qu'ils étaient libérés dans la circulation spontanément ou après fixation de l'anticorps, soit parce qu'ils étaient rapidement internalisés après fixation de l'anticorps, soit parce que leur expression était hétérogène au sein de la population tumorale ou modulée lors de l'évolution tumorale, soit en raison de leur présence sur des cellules normales .

■ l'utilisation exclusive d'anticorps d'origine murine [Figure 54] :

Elle avait deux inconvénients.

En premier lieu, le pouvoir cytotoxique des anticorps murins (opsonisation, activation du complément, cytotoxicité cellulaire) chez l'homme est faible ; les régions constantes de l'anticorps murin étant incapables d'assurer certaines de ces fonctions chez l'homme.

En second lieu, les traitements par les anticorps murins provoquaient l'apparition de xénoanticorps HAMA (*Human Anti-Monoclonal Antibodies* ou anticorps anti-idiotypiques) dirigés contre des antigènes du fragment Fc des immunoglobulines murines, responsables d'effets indésirables (réactions anaphylactiques ou maladies sériques) et de neutralisation de l'anticorps.

L'élimination des AcMo était ainsi accélérée et leur demi-vie était très courte, entraînant souvent, là encore, une diminution de leur efficacité.

Les HAMA pouvant persister plusieurs mois après le traitement par AcMo et réapparaissant très vite en cas de réintroduction de l'Ac Mo murin, l'utilisation prolongée ou ultérieure de tels anticorps était sérieusement limitée.

Les opportunités actuelles de traitement par anticorps monoclonaux sont devenues prometteuses grâce à l'amélioration provenant d'une meilleure sélection des anticorps et antigènes .

V-2-2- Caractéristiques et sélection des anticorps : AcMo chimérique et humanisé.

Grâce au progrès venus de l'ingénierie moléculaire, il a pu être fabriqué des anticorps chimérisés, comportant une faible part des fragments Fab d'origine murine, sites de liaison à l'antigène, tandis que le reste de la molécule, notamment le fragment Fc (responsable de la production d'Ac anti-souris) est remplacé par un fragment Fc d'origine humaine.

Ces Ac Mo chimériques n'entraînent que très rarement d'apparition d'Ac anti- murins HAMA. La combinaison des régions constantes humaines et des régions variables murines a donc permis la mise au point d'AcMo moins immunogènes, mais leur demi-vie reste plus courte que celle des immunoglobulines humaines. **[Figure 54]**

Pour réduire encore l'immunogénicité, l'ingénierie moléculaire a développé des anticorps « humanisés », fabriqués dans l'espoir d'améliorer leur cytotoxicité et/ou leur tolérance par :

- Insertion de régions CDR (complementarity-determining regions) sur une immunoglobuline humaine, qui n'intègre que le site de liaison à l'antigène de l'Ac murin.
- Création d'Ac bi-spécifique comportant un site de liaison à un Ag pan B (CD20) et un site de liaison à l'Ag CD3 des cellules cytotoxiques afin d'améliorer le recrutement des cellules T cytotoxiques au niveau des lésions lymphomateuses.

Ainsi, presque toute la molécule est d'origine humaine, à l'exception des régions déterminant la spécificité vis à vis de la cible, ou complémentarité (CDR) et de quelques acides aminés nécessaires à maintenir leur conformation correcte au sein du domaine de fixation. Les parties murines, intégrées dans une molécule humaine par génie génétique ne représente alors plus que 10% des acides aminés de l'anticorps. **[Figure 54]**

La sélection des Ac est également très importante. Dans la classe des immunoglobulines, il faut utiliser en priorité les IgG, dont la biodistribution est meilleure que celle des IgM. L'Anticorps ne doit pas avoir une clairance trop rapide. Enfin, la technique de traitement dite « First shot, first hit » qui consiste à injecter d'emblée une dose forte et unique, permet de pallier à l'internalisation et optimise l'antigénémie circulante.

V-2-3- Nature et choix des Antigènes cibles.

Les antigènes sont choisis en fonction du type d'anticorps que l'on veut utiliser.

Les cellules lymphomateuses portent à leur surface et/ou dans leur cytoplasme un grand nombre de constituants à activité antigénique, pouvant servir de cibles aux traitements par Ac Mo. **[Tableau XVI]**

Figure 54. Anticorps murin, chimérique et humanisé : les différences.

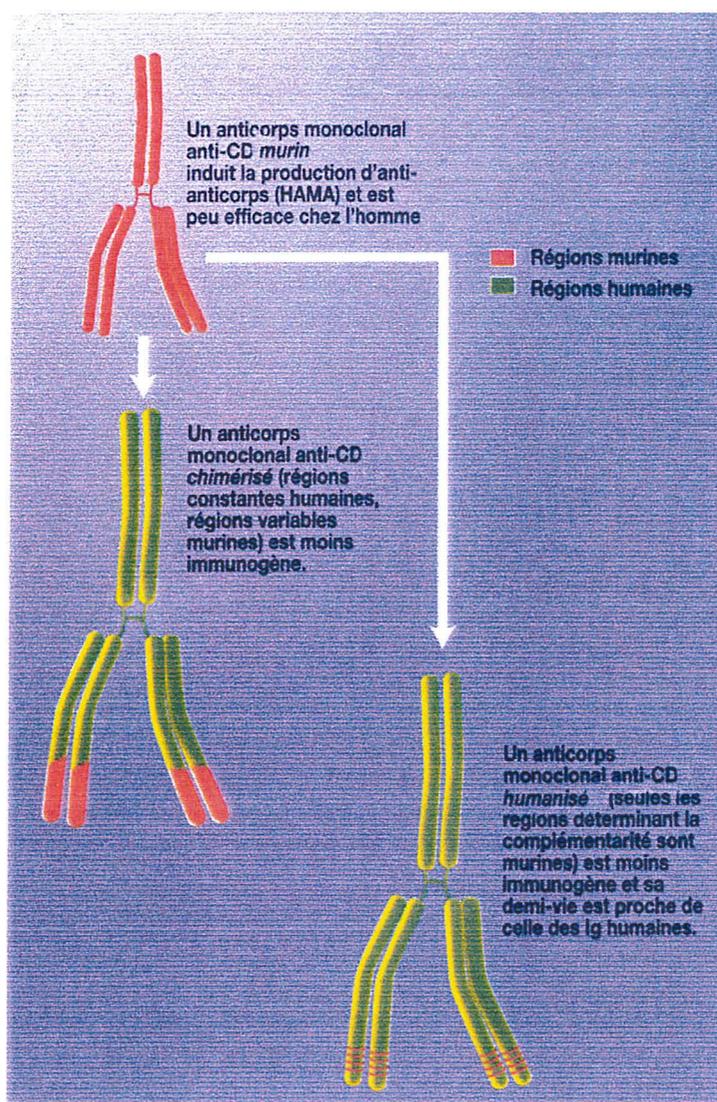


Tableau XVI. Antigènes des cellules B pouvant servir de cible à l'action d'anticorps monoclonaux.

Antigène de différenciation	Synonyme	Anticorps	Expression pathologique
CD10	CALLA		Lymphomes folliculaires, leucémies aiguës lymphoïdes lymphoblastiques
CD19	B4		Tous Lymphomes B
CD20	B1	L26	Tous Lymphomes B
CD22	B3	Leu 14	Tous Lymphomes B
CD23	B8		Certains Lymphomes B
CD45	Antigène leucocytaire commun		Tous Lymphomes
CD52		CAMPATH 1	Certains Lymphomes
CD79a	MB1		Lymphomes B

V-2-31- Les idiotypes.

La cible idéale est constituée par le déterminant idiotypique, c'est à dire la partie spécifique des molécules d'immunoglobulines de surface. C'est l'exemple même d'un Ag spécifique de tumeur.

Plusieurs études de traitement par Ac dirigés contre les déterminants idiotypiques ont été entreprises depuis 1980, notamment par l'équipe de Levy à stanford, d'abord avec des anti-sérums puis avec des AcMo.^[16]

Des rémissions inespérées, très prolongées ont été observées mais ces cas sont exceptionnels et les résultats globalement décevants.

Les limites de ces traitements sont de plusieurs ordres :

- la production d'Ac anti-idiotypiques doit être faite par technique d'hybridome quasiment pour chaque malade, procédure difficile, longue, coûteuse et sur mesure. [Figure 53]
- certains sous clones lymphomateux, dès le stade initial et surtout en rechute, expriment un idiotype muté qui n'est pas reconnu par l'Ac, voire n'expriment plus l'idiotype et constituent ainsi une cause de résistance primaire ou secondaire au traitement.^[131]
- sous l'effet de l'Ac Mo anti-idiotype, les cellules lymphomateuses sont capable d'internaliser, au moins transitoirement, l'idiotype pour se soustraire à l'action de l'Ac Mo.

Du fait de ces inconvénients, les développements actuels conduisent à faire produire par le malade lui même ces Ac anti-idiotypiques : il s'agit alors de la vaccination anti-idiotypique.

V-2-32- Autres antigènes.

D'autres antigènes cibles peuvent être choisis en fonction de plusieurs caractéristiques :

- Leur degré d'expression par les cellules lymphomateuses, qui doit être le plus élevé possible dans le sous type histologique que l'on cherche à traiter.
- Leur spécificité, en particulier leur expression par des cellules lymphoïdes ou extra-lymphoïdes normales.
- Les conséquences de la fixation des Ac Mo sur des cellules non lymphomateuses.
- Enfin , la densité par cellule doit être suffisamment élevée pour permettre une activation des cellules cytotoxiques et du système du complément (> à 200 000 par cellule).

Ainsi, ont été choisis [Tableau XVI]:

- L'Ag CD52, présent sur presque toutes les cellules lymphoïdes B et T et 95% des lymphomes. Mais les traitements par Ac Mo anti CD52 (Ac CAMPATH R1H) sont responsables de déficits immunitaires sévères.
- L'Ag CD22, exprimé par la quasi totalité des lymphomes B. Il a pour caractéristique une rapide internalisation après contact avec un Ac anti- CD22, ce qui représente souvent un inconvénient (peu d'activité cytotoxique) mais parfois un avantage lorsque cette internalisation favorise la pénétration intracellulaire d'une substance cytotoxique, comme une toxine.
- L'Ag CD20 qui présente d'énormes avantages. Son intérêt particulier réside dans quatre spécificités essentielles :
 - expression par presque tous les lymphomes B, quelque soit leur degré de malignité histologique.
 - important ancrage dans la membrane cellulaire, ce qui empêche son internalisation ou sa libération dans le milieu extra cellulaire.
 - forte densité d'expression sur les cellules lymphomateuses folliculaires notamment, mais beaucoup plus faible sur les cellules de Leucémie Lymphoïde Chronique ce qui en fait une moins bonne indication.
 - bien que l'Ag CD20 soit également exprimé par les cellules lymphoïdes B normales (sauf aux stades de maturation les plus précoces et les plus tardifs) un traitement par Ac Mo Anti-CD20 n'entraîne pas, pour des raisons assez mal connues, de déficit de l'immunité humorale et notamment de baisse des taux sériques des immunoglobulines normales. Il ne présente donc qu'un faible risque immunosuppresseur.

V-2-4- Traitement par Ac Mo anti-CD52 CAMPATH® 1H.

Wellcome Research Laboratories, Beckenham, UK.

L'Ac CAMPATH® 1H est une IgG1 humaine sur laquelle ont été greffées les 6 régions hypervariables des domaines variables des chaînes lourdes et légères de l'anticorps CAMPATH® 1G d'origine murine dirigée contre l'antigène CD52.

L'antigène CD52 est exprimé à la surface des lymphocytes T et B ainsi qu'à un faible degré sur les monocytes. C'est un polypeptide de 21-28 kDa fixé à une glycoprotéine.

Les mécanismes de l'activité anti-tumorale de CAMPATH® 1H, in vivo, ne sont pas complètement élucidés mais il semble qu'ils soient médiés par une activité cellulaire cytotoxique anticorps dépendante (ADCC), une activité cytolitique liée au complément ou l'induction d'une apoptose.

CAMPATH® 1H semble également induire une réponse immunitaire humorale et activer le réseau antigénique idiotypique, ce qui pourrait expliquer certains effets secondaires.

Si les premiers essais pratiqués sur les patients atteints de LNH de type B ont été peu concluants, ceux effectués sur des patients atteints de LLC le sont plus.

CAMPATH® 1H semble alors avoir induit une réaction cytotoxique « Natural Killer » en augmentant l'expression de CD16, la sécrétion de TNF- α , IFN- γ et IL-6.

Cependant CAMPATH® 1H a également induit de nombreuses lymphopénies prolongées et une immunosuppression induite à aboutit chez un patient à une infection sévère à CMV.

Un essai a démontré une rémission marquée chez 11 patients sur 15 et une rémission complète de 9 patients sur 15 traités par CAMPATH® 1H dans le cadre d'une leucémie polymphocytaire de type T.

Dans le cadre d'une LLC de type B, Osterborg a administré CAMPATH® à 9 patients tous atteints à des stades Ann Arbor III et IV pour les patients récidivant à une polychimiothérapie et des stades Ann Arbor IB, IIB et IIIB pour les patients jamais traités. [Tableau XVII]

Les patients N°1, 2, 3, 4 et 5 ont reçu une fois par semaine en intra veineuse lente (24h) des doses graduelles de CAMPATH® 1H pendant 4 à 12 semaines.

La dose initiale étant de 7,5 mg la première semaine puis de 12, 24, 75 puis occasionnellement de 240 mg par injection.

Les patients N° 6, 7, 8 et 9 ont été traités 3 fois par semaine (avec une injection de 2 heures en intra veineuse (patient 6 et 7) ou en sous cutanée pour les patients 8 et 9) pendant 18 semaines à des doses 3 à 30 mg de CAMPATH® 1H.

Les cellules malignes ont disparues du sang de tous les patients après une durée moyenne de traitement de 16 jours et elles sont restées absentes après l'arrêt du traitement de 8 à 24 mois.

Tous les patients atteints de LLC-B présentent une rémission complète de l'envahissement médullaire malin.

Le patient 5 présente une réduction de l'envahissement tumoral médullaire de 25 % alors que la biopsie médullaire des patients 1 et 3 reste inchangée.

Si le patient atteint de syndrome de sézary a vu régresser ses ulcérations malignes, d'importantes réactions cutanées avec prurit sont apparues.

Comme pour les essais précédents une lymphopénie (4480 lym/ μ L en début de traitement \Rightarrow 170 lym/ μ L en fin de traitement) est observée.

Les cellules NK et les monocytes CD14+ ont peu été modifiés par CAMPATH® 1H alors que les taux moyens de cellules lymphocytaires T natives CD4+ et CD8+ ainsi que les lymphocytes B (CD19+) ont été profondément modifiés.

Le taux moyen de granulocytes évolue peu et passe de $4,9 \cdot 10^9/L$ en pré-traitement à $3,1 \cdot 10^9/L$ en post-traitement.

Cette étude confirme certains effets secondaires de type allergique comme quelques fièvre, frisson, hypotension semble-t-il liés à la libération des cytokines ainsi que la lymphopénie induite par CAMPATH® 1H.

En conclusion, on pourrait dire que ces résultats expliquent le développement actuel de l'utilisation de CAMPATH® 1H, surtout dans la leucémie lymphoïde chronique et la leucémie prolymphocytaire.

Il pourrait également s'avérer utile dans les formes leucémiques de LNH en association avec un autre traitement. Mais cette activité se fait au prix d'une neutropénie et d'une lymphopénie sévères et prolongées avec un risque infectieux, notamment viral, élevé.

V-25- Traitement par Ac Mo anti CD20- Rituxan®/ Mabthera®.

Pour les raisons précédemment développées, de récents travaux ont présenté l'antigène CD20 comme une cible privilégiée de l'immunothérapie.

Le Rituxan® (Mabthera® en Europe) est donc le premier anticorps monoclonal anti CD20 qui fut agréé par la FDA dans le traitement du cancer.

Cet anticorps monoclonal chimérique est un hybride entre des régions variables des chaînes lourdes et légères d'un Ac Mo anti CD20 d'origine murines et des régions constantes de chaînes lourdes d'IgG1 κ humaines.

Le Rituxan® se lie donc de façon spécifique à l'antigène CD20 exprimé largement à la surface de cellules tumorales de nombreux LNH de phénotype B.

La nature même du récepteur CD20 en fait une excellente cible pour un traitement immunothérapeutique puisqu'il répond à tous les principes de base de l'immunothérapie induite par les anticorps monoclonaux.

L'expression de CD20 à la surface des cellules cancéreuses des LNH de type B est importante, il n'est pas internalisé, il ne mute pas, il n'y a pas de modulation de son expression. De plus de part son rôle biologique propre (canal calcique) son blocage spécifique semble induire une activité anti-tumorale directe puisqu'elle semble être concomitante in vitro avec une diminution de la croissance cellulaire tumorale, peut être en induisant une apoptose cellulaire. La fraction IgG1 du Rituxan® (rituximab) induit, elle une réponse immunitaire T cytotoxique.

Les modalités de traitement par rituximab sont simples ; le schéma habituel des essais cliniques comporte 4 perfusions intraveineuses (à raison d'une par semaine) à la dose de 375 mg/m^2 .

Cependant pour des raisons de risque de toxicité immédiate, ces traitements ne doivent être administrés que dans des services spécialisés.

A cette dose, les études pharmacocinétiques montrent que la concentration maximale (C max) et la demi-vie sérique :

- augmentent avec la répétition (quatre) des injections , probablement par diminution du pool d'Ag CD20 présents.
- sont inversement corrélées à la masse tumorale puisque l'élimination de l'Ac est essentiellement liée à sa fixation sur les sites CD20.
- sont plus faibles dans les lymphomes lymphocytaires (à faible expression de CD20) que dans les lymphomes folliculaires.
- après traitement unique (quatre semaines), l'Ac rituximab est retrouvé dans le sérum à des taux significatifs jusqu'à 6 mois après le traitement. La demi-vie du rituximab après la quatrième injection étant de 200 heures environ, on comprend mal cette longue persistance sérique de l' AC Mo. Il pourrait s'agir d'un phénomène de relargage de l'Ac par les cellules cibles CD20+ sur lesquelles l'Ac s'est fixé sans induire de lyse cellulaire.

Bien qu'après traitement par Rituxan®, la déplétion lymphocytaire soit profonde et prolongée (3 à 6 mois) la baisse des taux sériques des immunoglobulines est modeste (environ 20%) et il n'y a pas d'immunodépression significative.

Plusieurs études de Phase II ont été rapportées et ont démontré une efficacité puisque le nombre de cellules B malignes circulantes a rapidement chuté et devant des taux de rémissions allant de 48% à 50% la FDA a agréé le Rituxan® dans le traitement des LNH indolents de phénotype B et notamment de type folliculaire.

[Tableau XVIII]

Le rituximab est donc actuellement indiqué dans les lymphomes folliculaires de stade III/IV (de la classification Ann Arbor) à partir de la deuxième rechute après chimiothérapie ou en cas de chimiorésistance.

Il semblerait que le Rituxan® serait même efficace sur 45% des patients ayant déjà répondu positivement au rituximab et ayant rechuté puisque les lymphomes continuent habituellement à exprimer CD20, autorisant à reprendre un traitement par rituximab avec un taux d'efficacité non négligeable.

Une réponse immunitaire secondaire contre l'antigène chimérique ne se serait initiée que dans moins de 1% des cas.

La toxicité du Rituxan® est essentiellement observée pendant les perfusions, notamment lors de la première avec un risque de manifestation de type allergique : fièvre, hypotension, rashs cutanés, obstruction laryngée ou bronchospasme et voire exceptionnellement un choc (quelques décès toxiques ont été signalés).

Les autres complications sont plus rares. Il n'y a pas de toxicité hématologique notable, pas d'alopécie ; Il n'y a pas d'augmentation du risque d'infection.

Tableau XVII. Etude de phase II de l'anticorps chimérique anti CD52.

Patient	Age	Sexe	Stade d'Ann Arbor	Etat clinique du patient
1	67	F	IV	8 mois depuis la dernière chimiothérapie (LF)
2	37	F	III	4 mois depuis la dernière chimiothérapie (LF)
3	44	F	IV	23 mois depuis la dernière chimiothérapie (LF)
4	35	F	IV	23 mois depuis la dernière chimiothérapie (SS)
5	53	H	IV	7 mois depuis la dernière chimiothérapie (LF)
6	55	H	IB	jamais traité (LLC-B)
7	61	F	IIB	jamais traité (LLC-B)
8	71	F	IB	jamais traité (LLC-B)
9	43	H	IIIB	jamais traité (LLC-B)

LF : Lymphome Folliculaire

SS : Syndrome de Sesary

LLC : Leucémie lymphoïde chronique de Phénotype B

Tableau XVIII. Etudes de phase II de l'anticorps chimérique anti CD20 rituximab dans les lymphomes de faible grade

Auteur [Réf.]	Nb de patients	Type histologique	Nb médian de chimios antérieures	Réponse globale (%)	RP (%)	RC (%)	Durée méd. Réponse (mois)
Maloney [78]	37	Foll	2	46	38	8	10,2
Mc laughlin [75]	166	Foll	3	48	42	6	13,0
Gupta [50]	37	Faible grade	2	63	NP	NP	>11
Piro [90]	31	Faible grade*	3	43	35	8	9
Davis [26]							

NP : non précisé

Foll : Lymphome Folliculaire

RP : Réponse partielle

RC : Réponse complète

* Patients avec volumineuse masse tumorale, c'est à dire au moins une masse > 10 cm.

D'autres développements du Rituxan® sont en cours d'étude :

- En traitement initial, en monothérapie dans les lymphomes folliculaires.
- La place du rituximab combiné à une polychimiothérapie de type CHOP est déjà en cours d'évaluation dans le cas de LNH indolents. Le protocole consistant à administrer 6 doses de rituximab entre six cycles de type CHOP. La toxicité du traitement proposé a été comparable aux types d'effets secondaires survenus lorsque le rituximab est utilisé seul ou lors d'une polychimiothérapie de première génération.
- Une amélioration clinique est apparue pour la plupart des patients et une régression tumorale suivie par une diminution de l'expression de bcl-2 tant au niveau des cellules circulantes que dans les masses tumorales elles mêmes a été constatée.
- Avant intensification thérapeutique avec autogreffe de cellules souches hématopoïétiques pour purger in vivo la moelle et le sang de cellules lymphomateuses.

En conclusion, il semble déjà que l'Ac Mo anti- CD20 sera le premier d'une nouvelle classe d'agents promettant une forte spécificité tumorale et sans nombreux effets secondaires pour l'hôte.

V-3- Autres alternatives de traitement par les AcMo.

V-3-1- Radio-immunothérapie.

V-3-1a- Principes généraux.

Elle consiste à augmenter la cytotoxicité des AcMo en les couplant à des substances elles mêmes cytotoxiques : un radio-isotope.

La présence d'un radio-isotope accroît considérablement la cytotoxicité, tout en préservant une sélectivité d'action du radio-isotope qui détruit surtout les cellules porteuses de l'antigène contre lequel est dirigé l'Ac Mo mais également les cellules contiguës aux cellules porteuses de l'antigène (quelles soient lymphomateuses ou cellules réticulaires de soutien de la prolifération). Deux isotopes sont essentiellement utilisés :

□ L'iode 131 (émetteur β et γ) dont la demie vie est relativement longue (huit jours) et qui exerce un effet tumoricide sur environ un millimètre autour de la cellule lymphomateuse. Sa dosimétrie est bien établie et il permet la réalisation d'une imagerie médicale associée du fait de l'émission γ qui impose cependant le respect des mesures de radioprotection.

Il a également comme principal inconvénient la propriété de libérer de l'iode 131 libre, toxique pour la moelle osseuse et la thyroïde.

Sa liaison à l'AcMo est de type covalente.

□ L'yttrium 90 (émetteur β) dont la demi-vie est plus brève (2,5 jours) exerce des effets tumoricides sur une distance de cinq millimètres. Sa dosimétrie est moins bien connue que celle de l'iode 131.

En l'absence d'émission γ , il faut recourir au ^{111}In pour l'imagerie médicale devant précéder le traitement (cet émetteur γ ayant les mêmes propriétés biochimiques que l'yttrium). Cependant il peut être administré sans environnement radioprotégé.

Sa liaison à l'AcMo se fait par l'intermédiaire d'un chélateur et malgré des progrès dans les techniques de couplage, de l'yttrium 90 peut être libéré et présenter une toxicité médullaire et hépatique.

En dépit de leurs inconvénients, l'utilisation de ces anticorps donne des résultats encourageants.

V-3-1b- Applications et résultats.

La plupart des études publiées ont comporté un couplage du radio-isotope à un Ac Mo murin anti CD20.

La longue persistance dans l'organisme des anticorps hybrides exposerait à un risque de toxicité accrue, en particulier médullaire.

Il existe deux types d'essais avec des anticorps radiomarqués, selon la dose d'irradiation :

- ceux à dose modérée (de l'ordre de 75 cGy) dont le myélotoxicité est modérée et rapidement réversible.
- ceux à dose fortement myélotoxique (> 200 cGy) nécessitant un support de cellules souches hématopoïétiques après l'administration.

Les essais les plus prometteurs dans le domaine de la radio-immunothérapie ont été conduits en utilisant les AcMo radiomarqués pour traiter les patients récidivants atteints de lymphomes B. **[Tableau XIX]**

L'anticorps radiomarqué pour lequel l'expérience est la plus importante est le tositumomab, comportant un anticorps monoclonal murin de classe IgG2a anti CD20 associé à l'iode 131. ^[60]

Le schéma de traitement avec cet anticorps radiomarqué (comme avec les autres est assez complexe et comporte plusieurs étapes :

- saturation iodée par administration per os de iodure de potassium pendant 2 semaines ;
- administration d'une dose-test de l'anticorps radiomarqué (5 mCi) associée à 450 mg d'anticorps froid pour réaliser une imagerie fonctionnelle isotopique et surtout une dosimétrie pour déterminer la dose thérapeutique à administrer afin de réaliser une irradiation à la dose fixe de 75 cGy. En effet la dosimétrie varie notablement selon le sujet, la masse tumorale, le volume splénique, avec une dose d'iode radioactif allant de 50 à 200 mCi pour réaliser une telle irradiation ;
- administration une semaine plus tard de la dose thérapeutique associée à une dose de 450 mg d'anticorps froid pour saturer les sites de fixation non spécifique (rate).

Tableau XIX. Essais de radio-immunothérapie dans les Lymphomes non Hodgkiniens

Auteur [Réf.]	Type LNH	Anticorps	Isotope	Dose (mCi)	CSH	Nb de patients	Réponse
De Nardo [30]	B (60% des cellules)	Lym.1 (anti-DR)	¹³¹ I	30-100 multidose	-	14	7 RC 3 RP
Goldenberg [42]	B	LL-2 (anti CD22)	¹³¹ I	19-60 multidose	-	7	2 RP 2 RM
Czuczman [23]	B	OK B7 (anti CD21)	¹³¹ I	30-50 multidose	-	18	1 RP 2 RM
Kaminski [60]	B	anti B1 (anti CD20)	¹³¹ I	36-160	-	59	20 RC 22 RP
Kaminski [61]*	B	anti B1 (anti CD20)	¹³¹ I	36-160	-	21	15 RC 6 RP
Kaminski [62]**	B	anti B1 (anti CD20)	¹³¹ I	65-75	-	60	10 RC 29 RP
Press [91, Phase I]	B	anti B1 (anti CD20)	¹³¹ I	200-550	-/+ ***	19	16 RC
Press [92, 55, Phase II]	B	anti B1 (anti CD20)	¹³¹ I	230-780	+	40	16 RC 2 RP
Knox [64]**	B	anti B1 (anti CD20)	⁹⁰ Y	14-50	-	18	6 RC 7 RP

* Patients non antérieurement traités.

** Essai pivotale multicentrique.

*** Moelle autologue « parachute » greffée en cas d'aplasie prolongée.

CSH = cellules souches hématopoïétiques.

RC : rémission complète.

RP : réponse partielle.

RM : réponse mineure.

La tolérance est excellente et la myélotoxicité est la dose limitante. Elle est le plus souvent de grade 2, rarement de grade 4 et le nadir s'observe environ 6 semaines après le traitement et la ou les cytopénies se corrigent en 10 semaines environ.

La myélotoxicité dépend notablement du degré d'infiltration lymphomateuse de la moelle qui inhibe l'hématopoïèse normale et concentre le radio-isotope à proximité des progéniteurs hématopoïétiques. C'est pourquoi les traitements par tositumab ont, jusqu'à présent, été réservés aux malades dont l'infiltration lymphomateuse médullaire n'excédait pas 25% des surfaces intratrabéculaires. [60-62]

Après radio-immunothérapie par tositumab, les anticorps antimurins (HAMA) se développent rarement chez les malades prétraités (environ 10%). Ils sont plus fréquents chez les malades non prétraités (environ 35%) et s'accompagnent parfois de manifestations cliniques (maladies sériques). Ils sont actuellement considérés comme une contre indication à tout traitement.

Les radio-immunothérapies à forte dose visent à délivrer une dose n'excédant pas 25-31 Gy sur les organes normaux les plus irradiés [74], dose calculée comme précédemment après injection d'une dose-test suivie d'une étude dosimétrique. [92]

La moelle osseuse est réinjectée lorsque la radioactivité a suffisamment diminué pour éviter le risque de destruction du greffon, environ 2 semaines après l'injection de l'anticorps marqué, alors que les malades sont déjà en neutropénie profonde. Ces traitements nécessitent donc une hospitalisation prolongée en secteur protégé.

Le développement de la radio-immunothérapie est très rapide aux Etats Unis. Débuter des essais cliniques en Europe nécessite la mise en place de structures coordonnées hématologues-nucléaristes, en particulier pour se conformer aux mesures réglementaires de radioprotection.

V-3-2- Immunotoxines.

Dans les années 80, de considérables efforts ont été consacrés à la production d'immunotoxines et de grands espoirs étaient fondés sur ce type d'immunothérapie.

Les immunotoxines sont des anticorps monoclonaux couplés à une toxine :

- Toxine de la ricine, constituée d'une chaîne A, porteuse de la propriété toxique, grâce à son action sur les ARN ribosomiaux, et d'une chaîne B, qui permet l'adhésion cellulaire de la ricine et son transport intracellulaire. Pour diminuer sa toxicité systémique non spécifique et grave, la toxine de la ricine est utilisée soit sous forme de la chaîne A isolée (mais sa toxicité est alors imprévisible), soit après blocage des sites galactose de la chaîne B (ricine bloquée), ce qui diminue notablement son adhésion cellulaire, soit après déglycosylation de la chaîne A [44-46]
- Toxine diphtérique, également formée de deux chaînes A et B aux propriétés similaires.
- Exotoxine de pseudomonas.

Le principal problème des immunotoxines est le lien entre la toxine et l'anticorps monoclonal, qui doit être suffisamment fort pour éviter une libération non spécifique et la toxicité systémique qui l'accompagne, mais assez faible pour que la toxine soit libérée à la surface des cellules cibles pour exercer ses capacités cytotoxiques après pénétration intracellulaire.^[125]

L'antigène cible est choisi sur plusieurs caractéristiques :

- densité suffisante avec affinité élevée.
- internalisation après fixation de l'anticorps pour favoriser la pénétration cellulaire de la toxine.

L'antigène CD22 des lymphomes B satisfait à ces critères mais n'est exprimé que par 70% des lymphomes B.

Les résultats des traitements par immunotoxine sont globalement décevants^[72] avec une efficacité modeste et une toxicité significative^[125].

Ceci s'explique en partie par l'absence de maîtrise de leur effets secondaires non spécifiques, notamment un syndrome de fuite capillaire, une toxicité hépatique et le développement d'anticorps antimurins dans environ 50% des cas^[46].

Un espoir certain était fondé sur les traitements par immunotoxines (anti CD19 ricine bloquée) après autogreffe de cellules souches, lorsque la maladie résiduelle est la plus minime. Alors que les résultats d'un essai de phase II étaient encourageant^[45], l'actualisation récente d'un essai multicentrique randomisé ne les confirme pas : survie sans maladie à 2 ans de 42% dans le bras avec immunotoxine contre 62% dans le bras contrôle (p=0,14)^[47].

Les perspectives actuelles de développement des immunotoxines semblent modestes.

V-4- Immunothérapie active non spécifique.

V-4-1- Interféron α (IFN α).

Les essais de phase II des années 80 réalisées avec différents types d'IFN α (naturel ou recombinant) à des posologies très diverses, selon des schémas d'administration variés, ont montré un taux de réponse d'environ 50% dans les LNH indolents en rechute.^[119]

L'étude randomisée du Groupe d'étude des lymphomes folliculaires (GELF) dans les Lymphomes Folliculaires de faible masse tumorale a montré un taux de réponse en première ligne à l'IFN α de 70% avec une médiane de survie sans progression de 35 mois^[15], résultat similaire à celui d'une chimiothérapie orale conventionnelle par alkylant. Un traitement initial par IFN α seul n'est pas actuellement préconisé.

Un grand nombre d'essais testant la place de l'IFN α dans les lymphomes de faible grade (en majorité des lymphomes folliculaires) en association à une chimiothérapie [Tableau XX] ont été publiés et ont fait l'objet, pour la majorité d'entre eux, d'une méta analyse récente [99] permettant à présent de tirer certaines conclusions :

- Les bénéfiques thérapeutiques d'IFN α sont d'autant plus importants que la chimiothérapie associée est lourde, en particulier lorsqu'elle comporte une anthracycline ou une anthracénone. [109, 113, 116, 124]
- Il existe une dose-seuil d'efficacité de l' IFN α retrouvée à 9 MU/ semaine dans l'étude du German Lymphoma study group (GLSG) et dans la méta-analyse. [100]
- Les résultats semblent meilleurs lorsque le traitement est suffisamment long (18 mois dans l'étude du GELF [113-116] jusqu'à progression dans l'étude du GLSG [124].
- La sélection des patients selon des critères pronostiques est importante : ainsi l'étude du GELF a montré des effets bénéfiques dans les lymphomes folliculaires avec forte masse tumorale [113], l'étude du GLSG dans les lymphomes de faible grade avec symptômes B initiaux [124]. L'étude actualisée de l'ECOG confirme un avantage en survie chez les malades traités par interféron pour ceux ayant un lymphome de faible malignité et des facteurs pronostiques péjoratifs proches de ceux du GELF. [110]
- même si, par ses effets toxiques généraux (accès fébriles, asthénie physique et psychique, troubles thymiques...), l'interféron α amoindrit la qualité de vie pendant le traitement, le bénéfice sur la survie compense largement les effets négatifs [20].

Ces résultats incitent donc à associer l'IFN α à dose suffisante à une chimiothérapie assez lourde dans les formes de forte masse tumorale, même en dehors d'un essai clinique.

Quelques essais cliniques ont également testé un rôle éventuel de l'IFN α après intensification thérapeutique avec autogreffe de cellules souches à la fois comme immunothérapie (augmentation d'expression des antigènes du CMH, augmentation de l'activité NK) et en raison de son activité antiproliférative directe [12].

A ce jour, peu d'essais ont été publiés [94, 103].

La série la plus importante comporte 32 patients traités après autogreffe par IFN α , 2 MU/m², trois fois par semaine pendant 6 mois. La tolérance a été acceptable et les résultats sont encourageants en terme de survie sans rechute [103].

Un essai européen randomisé est actuellement en cours.

D'autres essais testent une immunothérapie après autogreffe associant à l'IFN α soit de l'interleukine 2 (IL-2), soit de la cyclosporine A (CsA).

Généralités sur les Lymphomes non Hodgkiniens (LNH)
Thérapeutiques classiques et perspectives d'Immunothérapie

Tableau X X. Association chimiothérapie/ Interferon alpha dans les Lymphomes de faible malignité

Référence	Type LNH (grade)	Dose IFN α (/ sem)	Durée IFN α (mois)	Chimio	Nb pts	Médiane SSP (mois) sans IFN α	Médiane SSP (mois) avec IFN α	p	Médiane survie (mois) sans IFN α	Médiane survie (mois) avec IFN α	p
IFN α en entretien ¹											
EORTC [51]	Faible (>90% foll.)	9 MU/m ²	12	CVP	242	22	33	0,054	Pas de différence ⁵		
Aviles [3]											
GLSG [124]	Faible	15 MU	12	CEOP-CVP	98	46	>108	<0,01	74	>108	<0,001
	Faible	15 MU	jusu'à prog.	CVP	170	15	21	<0,05	NR	NR	NR
SWOG [25]	Faible	6 MU/m ²	12	PmM	180	27	43	<0,05	NR	NR	NR
				ProMACE-MOPP	279	40	58	0,18	77%***	80%***	NS
IFN α en association ²											
ECOG [72,73]	Faible ⁴ + intermédiaire	30 MU/m*	6-9	COPA	249	23	35	0,008	68	94	0,04
GELF [109,110]	Foll.	15 MU	18	CHVP	242	18	34	<0,005	66	83	<0,02
IFN α en association+ entretien ³											
ECOG-CALBG [89]	Folliculaire	6 MU/m ²	24	CPM	581	31%***	32%***	0,99	67%***	69%***	0,99
	s				204 ⁶	42%	46%	0,40			
Arranz [3]	St III-IV	9 MU/m ²	12	CVP	144	22	>36	0,0003	82%**	70%**	0,3
St Barth. [100]	Faible Foll.	9 MU	4,5	CBC	108	Pas de différence de survie sans progression et de survie globale ⁵					

CVP = cyclophosphamide-vincristine-prednisone ; CEOP = CVP+épirubicine ; PmM = prednimustine-mitoxantrone ; ProMACE-MOPP = chimiothérapie alternée avec procarbazine-adriamycine-cyclophosphamide-étoposide puis méchlorétamine-vincristine-procarbazine-prednisone ; COPA ou CHVP = CVP+adriamycine ; CPM = cyclophosphamide ; CBC = chlorambucil ; SSP = survie sans progression ; NR = non rapporté.

¹ IFN α administré chez les patients ayant une réponse complète ou partielle à une chimiothérapie d'induction.

² IFN α administré en association concomitante (GELF) ou séquentielle (ECOG) à une chimiothérapie

³ Essais à 4 bras comportant une randomisation initiale d'une chimiothérapie avec ou sans IFN α associé puis, chez les répondeurs, une deuxième randomisation d'entretien avec ou sans IFN α .

⁴ Avec une sélection des patients avec facteurs pronostiques péjoratifs.

⁵ Données chiffrées non mentionnées dans la publication.

⁶ Patients randomisés pour un traitement d'entretien après réponse à la chimiothérapie.

* Administré 1 semaine sur 4, juste avant chaque cycle de chimiothérapie.

** Survie à 6 ans.

*** Survie à 5 ans.

V-4-2- Interleukine 2 (IL-2).

Plusieurs essais de phase II ont testé l'efficacité thérapeutique de l'IL-2 dans les LNH, en association ou non à des cellules LAK (*lymphokine activated killers*). En monothérapie, les résultats sont modestes en termes d'efficacité et avec une toxicité notable (fièvre, rashes, fuite capillaire...).

L'efficacité est plus marquée dans les lymphomes T que dans les lymphomes B [41]. Les plus nombreuses études portent sur les indications de l'IL-2 après autogreffe de cellules souches (CS).

L'immunothérapie par IL-2 après autogreffe de CS a pour objectifs :

- de reconstituer plus rapidement les capacités immunitaires du malade.
- et plus spécifiquement de développer l'immunité antitumorale dans la situation de maladie résiduelle minime où se trouvent la plupart des patients après autogreffe de CSH.

En effet :

- la production d'IL-2 reste diminuée après autogreffe de CSH. [108]
- des cellules cytotoxiques activables par l'IL-2 sont présentes précocement après autogreffe. [86]
- ces cellules ont, après activation, des capacités de cytotoxicité in vitro vis-à-vis de cellules lymphomateuses. [39]

Les essais cliniques d'IL-2 après autogreffe de cellules souches ont surtout été pratiqués dans les leucémies aiguës, plus rarement dans les lymphomes. [11-14]

L'IL-2 administrée après récupération hématopoïétique augmente le nombre de lymphocytes T (CD3, CD4 et CD8), l'expression des marqueurs d'activation (CD16, CD56), l'activité NK et LAK [39] au prix d'une toxicité notable : fièvre, asthénie, cytopénie et rashes... [128]

Le petit nombre d'essais rapportés ne permet pas de conclure sur son efficacité dans la prévention des rechutes.

Un essai a associé de l'IL-2 à dose faible (3 à $6 \cdot 10^6$ UI/ m^2/j) et de l'interféron α 2a (3 MU/ jour, 5 jours / semaine).

L'immunothérapie était initiée après récupération hématologique après autogreffe pour les lymphomes en rechute.

La survie à 4 ans était de 90% dans le groupe de 56 malades (dont 36 LNH) ainsi traités, comparés à 46% dans un groupe contrôle historique de la même équipe. [84]

La survie sans maladie à 4 ans était de 64% dans le groupe traité par immunothérapie contre 48% dans le groupe contrôle ($p < 0,001$).

La toxicité était modérée avec seulement deux arrêts de traitement.

D'autres schémas, avec notamment un raccourcissement de la durée de traitement par IL-2 pour améliorer la tolérance, sont en cours d'investigation.

D'autres techniques utilisant IL-2 pour purger in vitro les cellules hématopoïétiques sont tout à fait préliminaires. [81]

V-4-3- Cyclosporine A (CsA).

La cyclosporine A (CsA) est utilisée après allogreffe de moelle dans la prévention et le traitement de la GVH. (maladie du greffon, Graft Versus Host). Mais curieusement, après autogreffe de CS, la CsA stimule le développement de cellules effectrices CD4+ et CD8+ reconnaissant des antigènes de classe II du CMH y compris des antigènes du soi et ainsi induit une pathologie auto-immune proche d'une GVH, avec une atteinte cutanée prédominante.^[53] Le mécanisme d'action est mal connu.

Néanmoins cet effet nécessite au préalable un conditionnement myélo-ablatif^[49]. Cette auto-immunité induite peut s'accompagner d'un effet anti-tumorale si les cellules expriment l'antigène de classe II du CMH.^[40] Une seule étude clinique non randomisée a pu suggérer un effet bénéfique de l'administration de CsA en association à l'IFN α après autogreffe de moelle.^[48]

V-5- Immunothérapie cellulaire non spécifique.

V-51- Allogreffe de moelle dans le traitement des LNH.

L'allogreffe de moelle, c'est à dire le remplacement de la moelle osseuse malade par la moelle saine d'un membre de la fratrie ou de tout autre donneur HLA compatible au décours d'un traitement myélo-ablatif comportant une irradiation corporelle totale (ICT) associée à une chimiothérapie intensive, a surtout été proposée dans les leucémies et tend à devenir obsolète.

Les courbes de survie des patients atteints de LNH et ayant bénéficié d'une allogreffe de moelle présentent^[93-127] une importante mortalité initiale (30à 40%) en rapport avec la toxicité de la procédure.

Cependant, un plateau de survie à partir de 12-18 mois avec un taux de rechute nettement inférieur à celui observé après autogreffe de cellules souches hématopoïétiques semble être un argument fort en faveur de l'existence d'un effet greffon contre lymphome (GvLy)^[126] propre à cette technique et qui peut être intéressant.

La possibilité de traiter une rechute, après allogreffe de moelle, en diminuant le traitement immunosuppresseur est également un argument en faveur de la présence d'un effet GvLy.

Cependant cette technique se heurte à un autre problème majeur, l'absence de donneurs.

Ainsi, les chercheurs ont cherché à constituer une approche thérapeutique parallèle. L'idée générale développée est, alors, de pouvoir délivrer non pas un greffon allogène indisponible, mais un greffon autologue.

V-5-2- Autogreffe de moelle dans le traitement des LNH.

Dès 1975 les équipes se penchent sur le problème des patients ne disposant pas de donneur pour allogreffe. L'idée générale était de faire suivre un traitement myélo-ablatif par la réinjection d'un greffon autologue traité au laboratoire et débarrassé des cellules tumorales le contaminant.

La stratégie thérapeutique consiste à traiter dans un premier temps, les patients par chimiothérapie conventionnelle, de façon à obtenir un état dit de tumeur résiduelle, correspondant dans le meilleur des cas à une rémission complète et, à défaut, à une rémission partielle, si possible d'excellente qualité (plus de 90% de réduction de la masse tumorale initiale).^[43]

Arrivés à ce stade, on procède, pour tous les patients à une intensification lourde par une polychimiothérapie de type BEAM (BCNU 300 mg/m², Etoposide 150 mg/m²/j et Aracytine 150 mg/m²/j x 4 jours, Melphalan 140 mg/m²), suivie de la réinjection d'un greffon autologue.

Les méthodes de prélèvement et de traitement du greffon autologue ont évolué au fil des ans.

L'équipe du P^r Gorin de l'hôpital S^t Antoine, Paris, s'oriente à partir de 1982, vers la mise au point d'une technique de traitement in vitro de la moelle autologue par un dérivé du cyclophosphamide : la mafosfamide.

Les doses de mafosfamide utilisées au laboratoire pour détruire les cellules tumorales et « guérir le greffon » correspondent à plus de trente fois la dose maximale admissible qui aurait pu être administrée in vivo.

Les moelles osseuses prélevées en rémission complète et traitées in vitro par le mafosfamide sont congelées en azote liquide.

De très nombreux contrôles, au niveau des progéniteurs hématopoïétiques (CFU-GM : Colony Forming Unit Granulo-Macrophage, BFU-E : Burst Forming Unit Erythroblast, LTCIC : Long Term Culture Initiating Cell...) sont nécessaires pour s'assurer de la qualité du traitement in vitro et aussi de la qualité de la cryopréservation du greffon traité.

Aujourd'hui, la qualité du traitement est assurée également par les études de cytogénétique et plus particulièrement les études « FISH » (Fluorescent In Situ Hybridization) qui détectent les cellules résiduelles tumorales.

Les résultats parallèlement obtenus par la communauté internationale indiquent très clairement que la réalisation d'autogreffe de moelle dépend très nettement de deux facteurs essentiels :

- la richesse de la moelle prélevée en salle d'opération.
- l'agressivité de la purge de cette moelle par mafosfamide.

Pour augmenter la richesse de la moelle prélevée et pour améliorer également les cinétiques de prise du greffon, c'est à dire réduire la durée d'aplasie, le risque infectieux et la durée d'hospitalisation les équipes se dirigent actuellement vers la combinaison, pour la constitution du greffon autologue, de moelle + cellules souches hématopoïétiques sanguines prélevées par cytophérèse, les deux purgées par mafosfamide.

De 1990 à 1996, des techniques de sélection positive ont été retenues : par ces techniques seules les cellules souches hématopoïétiques saines immatures ont été sélectionnées en prenant avantage de la présence à leur surface d'un antigène de type CD34.

Cet antigène est absent des cellules tumorales. La technique de purification des cellules CD34+ a consisté à les reconnaître dans un premier temps par un anticorps monoclonal anti-CD34, à les incuber dans un second temps, en présence d'un anticorps monoclonal de souris anti-gammaglobulines humaines conjugué à la biotine et à faire passer l'ensemble dans une dernière phase, sur colonne d'avidine. Le complexe avidine-biotine permet de retenir les cellules CD34+ qui sont ultérieurement détachées par agitation.

L'avantage de la constitution de greffon CD34+ est double :

- d'un part, le greffon lui-même n'est plus que d'un faible volume (4,5 ml d'un petit liquide blanchâtre) ne contenant que les cellules souches saines les plus immatures de l'hématopoïèse, sans aucune contamination par les cellules matures qui ne sont pas nécessaires à la prise du greffon et surtout avec une contamination réduite en cellules tumorales résiduelles.
- d'autre part, cette technologie a permis d'améliorer la tolérance à la réinjection du greffon chez les patients.

Le protocole comporte, en outre, après la réalisation de l'intensification terminale avec autogreffe, l'irradiation des sites antérieurement atteints par le lymphome.

Une analyse récente de l'ensemble de l'expérience a permis de montrer que dorénavant, pour les patients atteints de lymphome malin agressif, la réalisation de l'autogreffe en première rémission complète à partir d'un greffon purgé permet d'obtenir des taux de guérison de 75%.

De même, le taux de rechute est inférieur si le greffon est purgé par le mafosfamide de façon agressive. **[Figure 55]**

Parallèlement, les études réalisées par d'autres équipes ont clairement établi que les résultats sont meilleurs en termes de survie sans maladie et en termes de non-rechute, lorsque la purge du greffon a été efficace et s'est notamment accompagnée, dans le cas des LNH de type folliculaire, de la disparition du marqueur tumoral le plus fréquent en biologie moléculaire, le transcrite bcl2-JH (étudié par PCR). **[Figure 56]**

Au total, la thérapie cellulaire, le traitement in vitro des greffons et la réalisation des autogreffes ont permis d'améliorer considérablement le pronostic des patients atteints de lymphome.

V-5-3- Greffes de cellules souches hématopoïétiques allogéniques non myéloblastiques.

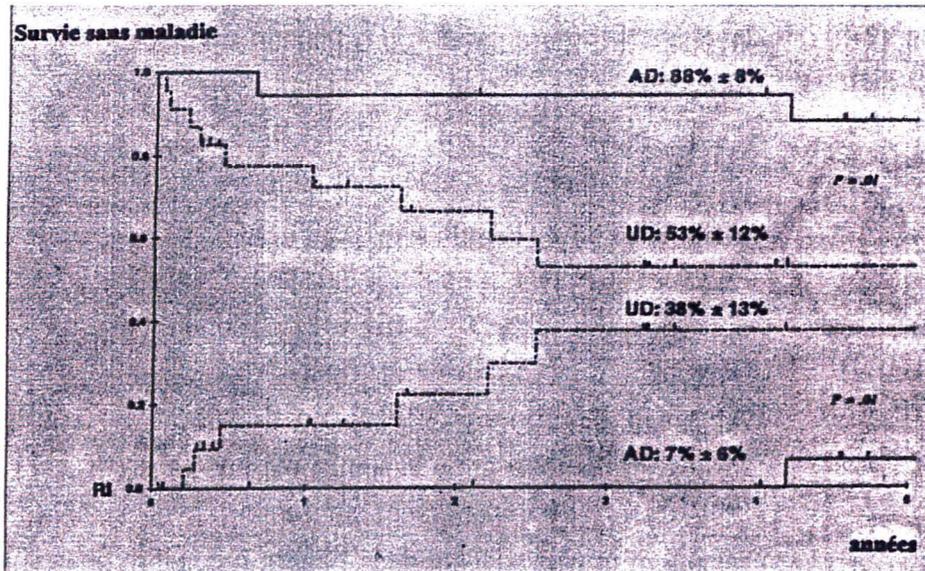
Compte tenu de la mortalité initiale de l'allogreffe de moelle et des limites d'âge de la procédure, des techniques d'allogreffes de cellules souches hématopoïétiques CSH de sang ou de moelle provenant d'un donneur HLA-compatible ont été développées.

Elles peuvent être faites après un conditionnement moins myélotoxique que l'association classique irradiation corporelle totale/ cyclophosphamide à fortes doses.

Le conditionnement a alors essentiellement un rôle immunosuppresseur pour permettre la prise de la greffe de CSH et l'installation d'un chimérisme.

Figure 55 .Survie sans maladie et taux de rechute après autogreffe en première rémission chez les patients atteints de Lymphomes malins non-hodgkiniens, en fonction de la technique utilisée pour purger la moelle des cellules tumorales résiduelles, par mafosfamide.

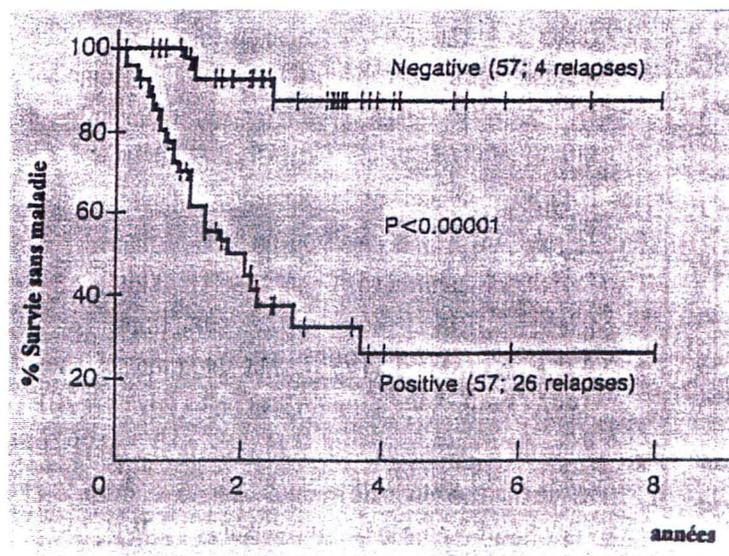
D'après « *Journal of Clin. Oncol.* », 1998,16 : 2803-2816.



AD : doses de mafosfamide individuellement ajustées à la sensibilité des progéniteurs.
UD : dose unique pour tous les patients.

Figure 56 .Probabilité de survie sans maladie après autogreffe de moelle osseuse sur une série de 114 patients atteints de Lymphome malin non-hodgkinien de type B.

D'après GRIBBEN J.G ET AL. « *New Engl. Journal of Medicine* », 1991, 325 : 1525.



La courbe « négative » correspond aux patients dont la moelle a pu être purgée avec efficacité des cellules tumorales résiduelles par anticorps monoclonaux et complément.
L'évaluation a été faite par détection en biologie moléculaire (PCR) de la translocation bcl2-JH.

Les conditionnements réduits les plus utilisés comportent en général une association fludarabine +/- cyclophosphamide +/- cytarabine +/- cisplatine +/- sérum antilymphocytaire car ils associent des médicaments aux propriétés au moins autant immunosuppressives que cytotoxiques.^[63]

L'équipe de Seattle va même jusqu'à envisager des allogreffes de CSH en hospitalisation de jour avec conditionnement par une dose unique d'irradiation corporelle totale de 200 cGy.

L'aplasie provoquée par de tels conditionnements est inconstante et de brève durée, ce qui permet de proposer ces traitements chez le sujet âgé.

L'allogreffe de CSH permet d'obtenir un chimérisme complet dans 70% à 90% des cas. Les allogreffes de cellules souches d'origine sanguine sont de plus en plus préférées aux allogreffes de moelle en raison de leur plus grande richesse en cellules lymphoïdes immunocompétentes.^[65]

Cependant les risques des allogreffes de cellules souches du sang, notamment la prise du greffon et l'incidence de GVH à long terme ne sont pas établis.

Mais, il semble être envisageable de moduler la réaction GVH dont on espère qu'elle s'accompagnera alors d'une réaction GvLy :

- soit en la freinant par un traitement immunosuppresseur : cyclosporine, methotrexate, tacrolimus...
- soit en la renforçant en faisant suivre la greffe de transfusions de lymphocytes du donneur^[22], éventuellement activés ex vivo par IL-2^[106], qui augmentent le degré de chimérisme et peuvent permettre de compléter une réponse partielle obtenue par la greffe initiale^[39] mais exposent au risque de développement d'une réaction GVH fatale.

Le contrôle de la GVH pose en fait des problèmes non encore résolus et cette allogreffe de CSH après conditionnement non myéloablatif (parfois improprement appelée minigreffe) semble appelée à d'importants développements, mais reste réservée à un petit nombre de centres, en raison des nombreux problèmes de toxicité et d'efficacité restant à résoudre.

V-6- Immunothérapie active spécifique.

V-6-1- Stratégies vaccinales.

Le développement d'une réponse immunitaire naturelle dirigée contre les tumeurs in vivo ou induite, à des fins thérapeutiques repose sur le postulat qu'il existe des structures spécifiques à la surface des cellules tumorales (l'antigène tumoral), capables d'être présentées de manière efficace aux effecteurs du système immunitaire (Ly TCD4, Ly TCD8 ou Natural Killer).

Le développement de vaccins anticancéreux efficaces nécessite donc l'identification d'antigènes tumoraux qui permettront d'induire des réponses immunitaires capables de détruire les cellules cancéreuses.^[98]

Cette théorie se trouve effectivement confortée aujourd'hui par la découverte d'antigènes associés aux tumeurs (TAA, *tumor associated antigens*). Certains d'entre eux sont définis comme des « épitopes T », c'est à dire reconnus par des lymphocytes T sous forme de peptides associés au CMH.

Or, les réactions immunitaires cellulaires médiées par les lymphocytes T cytotoxiques sont prédominantes dans la destruction des tumeurs cancéreuses, ce qui a conduit à développer les approches thérapeutiques liées aux épitopes T. Les progrès réalisés ces dernières années ont montré que les antigènes associés aux tumeurs étaient des variations des différentes protéines du soi. Une autre approche prometteuse pour augmenter la fréquence des précurseurs cytotoxiques spécifiques de tumeur est d'agir sur les cellules présentatrices d'antigènes originaires de la moelle osseuse.

Les cellules dendritiques de l'environnement tumoral jouent un rôle fondamental dans la présentation de ces antigènes associés aux tumeurs qui met en jeu une panoplie de cytokines immunostimulantes et de molécules de co-stimulation nécessaires à la mise en route et au maintien des effecteurs lymphocytaires. Plus récemment, un compartiment vésiculaire sécrété par les cellules dendritiques, les exosomes, a été mis en évidence. Il contient les différentes molécules nécessaires à la présentation de l'antigène et peut interagir à distance du site tumoral avec le système immunitaire.

La compréhension de l'ensemble des mécanismes de l'immunité antitumorale devrait permettre le développement de stratégies thérapeutiques efficaces et de comprendre les mécanismes variés développés par les tumeurs pour échapper au système immunitaire.

V-6-2- Induction d'une réponse antitumorale efficace : Nature de l'antigène associé au tumeur cible et donc nature de l'agent vaccinal.

Pour stimuler une réponse antitumorale [Figure 57], la pertinence immunologique de la cible repose à la fois sur une expression spécifique aux cellules tumorales, mais également sur un spectre d'expression large (exprimé par les tumeurs d'un grand nombre de patients).

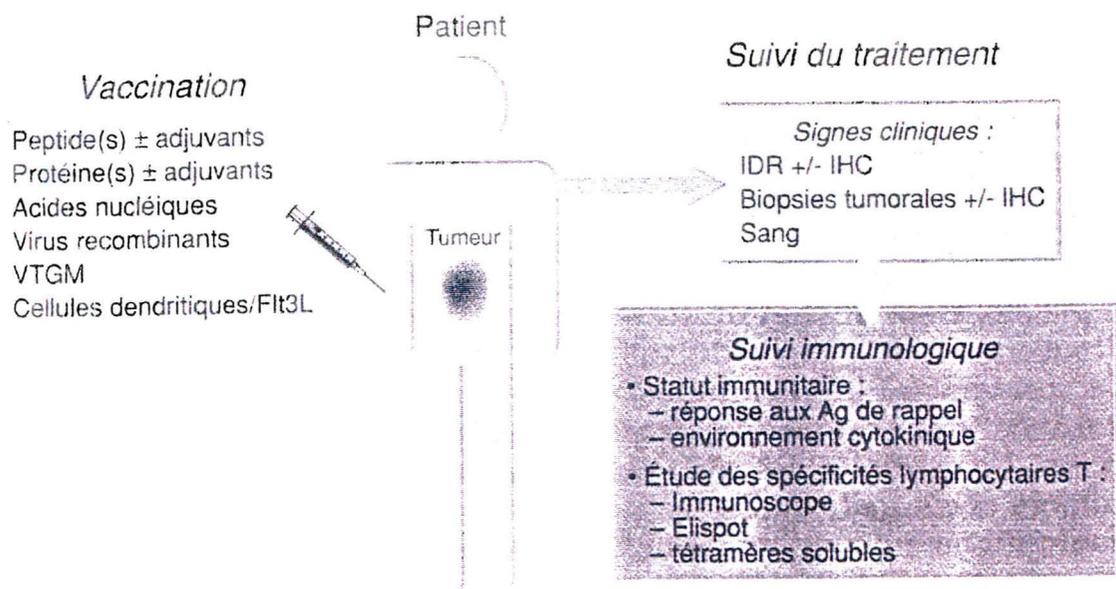
Les Ag potentiellement utilisables dans des stimulations de type « vaccinal » sont ceux identifiés comme cibles de lymphocytes T, soit dérivés de lymphocytes de patients, soit obtenus après stimulation in vitro en criblant des antigènes candidats. L'antigène optimal est la protéine étrangère de type viral (protéines du papillomavirus pour les cancers du col de l'utérus) ou mutée (néoantigènes produits par mutation génique ou par transcription illicite de la cellule tumorale), mais il s'est avéré qu'une grande proportion des épitopes cibles des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques antitumoraux (CTL) sont en fait issus des protéines du soi. Leur détection par le système immunitaire implique donc une levée de tolérance qui devrait théoriquement engendrer des réactions auto-immunes.

En pratique, les réactions antitumorales contre les antigènes du soi sont parfois concomitantes à des syndromes auto-immuns localisés, mais n'engendrent pas de manifestations chroniques et incontrôlées.

En effet, au cours d'une réaction antitumorale, les processus de protection contre les phénomènes auto-immuns sont multiples.

L'importance d'une réactivité antitumorale faisant intervenir des antigènes du soi et le poids respectif de chacun des phénomènes de levée de tolérance restent difficile à évaluer et sont probablement propres à chaque maladie si ce n'est à chaque patient.

Figure 57. Stratégie vaccinale et suivi immunologique.



Les différentes approches d'immunothérapie spécifique qui sont développées requièrent une évaluation à la fois clinique et biologique. L'appréciation des réponses immunitaires anti-tumorales induites chez le patient traité repose sur des techniques fines d'analyse de la spécificité antigénique de lymphocytes circulants et infiltrant la tumeur.

VTGM : Vaccins Tumoraux Génétiquement Modifiés.

IDR : Intradermoréaction.

IHC : Immuno-histochimie.

Ag : Antigène.

L'antigène tumoral tel qu'il est apporté par la cellule tumorale n'est en principe pas ou peu immunogène et le rationnel d'une « vaccination » repose sur le fait que l'antigène, pour induire une réponse antitumorale, doit être administré de façon plus « immunogénique ».

Dans les préparations vaccinales, l'antigène peut être délivré sous différentes formes :

■ Antigène sous forme peptidique.

L'objectif est, par une administration systémique de peptides, de déclencher l'expansion in vivo de précurseurs de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques de TAA qui pourront être mobilisés aux sites tumoraux pour détruire les cellules tumorales.

Le choix du peptide repose sur des données d'immunologie conventionnelle.

Le peptide doit pouvoir se lier à un allèle du CMH fréquent dans la population de patients, et le complexe CMH-peptide correspondant doit être exprimé à la surface des cellules tumorales. Le peptide peut alors être retrouvé à partir d'un éluat de cellules tumorales et le complexe peut être reconnu spécifiquement par des cellules T, cette reconnaissance induisant la lyse tumorale.

Mais ce choix dépend également du répertoire de lymphocytes T existant et capables de reconnaître le complexe CMH/peptide.

En pratique, un certain recul permet de montrer des résultats encourageants dans le cadre de patients atteints de mélanomes.

En effet des peptides de TAA liant les allèles HLA-A1, A2, A3, B44 ont été utilisés in vitro dans des expériences de stimulation répétées de lymphocytes circulants ou de lymphocytes infiltrants.

Ces stimulations engendrent des activités spécifiques du complexe CMH-peptide qui permettent une reconnaissance et une lyse de cellules tumorales.

Des études précliniques montrent effectivement que des peptides utilisés en vaccination peuvent déclencher ou augmenter des réponses de lymphocytes T spécifiques de TAA et entraîner le rejet de la tumeur.

En revanche certains peptides si ils semblent induire une réponse immunologique détectable dans le sang des patients n'impliquent pas de signe clinique de régression de la tumeur.

Ceci pouvant s'expliquer par une insensibilité des cellules tumorales in vivo à l'activité lytique des lymphocytes ou par l'existence de peptides homologues non issus de TAA.

Par conséquent lorsqu'elles sont disponibles, des données suggérant une association entre réponse CTL et réponse clinique devraient être l'ultime critère de choix d'un peptide antigénique.

■ Antigène sous forme protéique.

Ces antigènes ainsi utilisés sous forme soluble pourraient offrir l'avantage théorique, en association avec un adjuvant, de déclencher des réponses lymphocytaires T CD4+ et CD8+ pluri-épitopiques, ainsi que des réponses lymphocytaires B.

Cependant il n'a été obtenu jusqu'alors des résultats probant que dans le cadre des Mélanomes malins.

■ Antigène sous forme d'acides nucléiques.

On entend donc parler depuis quelques années de vaccin à ADN, qualification ambiguë puisque l'acide nucléique administré n'est pas directement l'agent immunisant, mais plutôt un agent de production.

Dans cette stratégie thérapeutique l'antigène immunisant est toujours classiquement de nature protéique. Simplement ces antigènes ne sont pas administrés directement en tant que tels, mais synthétisés dans l'organisme par des cellules ayant intégré le (ou les) gène(s) codant(s), porté(s) par un épisode bactérien.

Il s'agit en somme de déplacer le site de production de l'antigène du laboratoire vers l'organisme. Techniquement l'intérêt réside dans la facilité et l'adaptabilité de la production.

En pratique, un certain nombre d'essai pré-clinique et clinique se développent mais encore peu au niveau des Lymphomes, le choix de l'antigène cible semblant encore réduit.

V-6-3- La vaccination anti-idiotypique.

L'idiotype des immunoglobulines de surface (SIg) semblait être la cible idéale d'immunothérapie dans le cadre des LNH, cependant si l'équipe de Levy de l'université Stanford s'intéresse depuis les années 80 à cette cible [67-68-69] les difficultés techniques qu'elle a rencontrées lui ont progressivement fait abandonner des espérances de traitement par anticorps anti-idiotypes par des perspectives de vaccination anti-idiotypique.

Il s'agit de cloner les gènes des séquences idiotypiques des cellules lymphomateuses puis de les transférer pour produire les antigènes idiotypiques.

Après couplage à une protéine de transport et association à un adjuvant de vaccination, ils sont injectés au malade.

Cette technique permet le développement d'une réponse immunitaire anti-idiotypique dans 50% des cas, le plus souvent de type humorale polyclonale spécifique, avec ou sans réponse T cytotoxique associée. [68]

La réponse antitumorale est plus importante lorsque la réponse immunitaire est mixte, à la fois de nature humorale et cellulaire. [16-121]

Des études cliniques [10-49] effectuées suite à une chimiothérapie conventionnelle ont non seulement démontré l'apparition d'une réponse immunitaire chez des patients atteints de lymphome folliculaire suite à une vaccination anti-idiotypique mais également des cas de rémission complète.

D'autres études proposent la réalisation d'une vaccination anti-idiotypique combinée à une intensification thérapeutique avec autogreffe de cellules souches.

Elle peut se faire avant l'intensification car des études animales et humaines montrent que l'immunisation obtenue persiste, notamment au niveau cellulaire, après autogreffe y compris après un conditionnement par irradiation corporelle totale [67] et elle a pour avantage de mettre à l'abri du conditionnement immunosuppresseur les cellules immunocompétentes contenues dans le greffon. [70]

Une autre technique proposée consiste en une vaccination dans un délai de 2 mois après l'intensification thérapeutique puisque le malade va alors récupérer une capacité de réponse à une immunisation. Ce délai peut être raccourci en diminuant

le potentiel immunosuppresseur du conditionnement et/ou grâce à un traitement immunostimulant post autogreffe par IL-2.

Cependant les obstacles soulevés par ce type d'approche thérapeutique restent encore important, notamment au niveau du coût thérapeutique puisque chaque mélange idiotypique immunogène est spécifique du patient et donc non reproductible.

De plus le taux de patients immuno-répondant reste encore faible.

V-6-4- Les cellules dendritiques.

Une autre cible de l'immunothérapie spécifique adaptée aux lymphomes semble donc être les cellules dendritiques.

Les cellules dendritiques sont les cellules présentatrices de l'antigène les plus efficaces pour stimuler in vitro les lymphocytes T et pour initier in vivo une réponse immune primaire.

Elles ont été individualisées en 1973 par Steinman et Cohn ^[120] grâce à leur morphologie caractérisée par de nombreux prolongements cytoplasmiques formant les dendrites.

Elles existent sous deux états fonctionnels distincts, correspondant à deux stades de maturation :

- au stade immature, elles sont disséminées à travers l'organisme, dans des organes non lymphoïdes, plus particulièrement aux sites d'interface de l'organisme avec l'extérieur (peau, muqueuses). ^[5-52] Elles internalisent et appréhendent des antigènes, mais leur capacité de stimulation des lymphocytes T est faible.

- les cellules dendritiques matures apparaissent suite à un long processus de maturation. Pendant celui-ci, elles perdent leur capacité d'internaliser les antigènes et migrent dans les organes lymphoïdes secondaires dans lesquels, arrivées à maturité, elles sont très efficaces pour présenter aux lymphocytes T les peptides dérivés des antigènes ingérés au stade immature. Différents stimuli inflammatoires, tels que le lipopolysaccharide (LPS constituant de la paroi bactérienne) ou des cytokines (IL-1 ou TNF α) induisent cette maturation cellulaire.

Les interactions cellulaires entre les cellules dendritiques mûres et les lymphocytes T sont très efficaces du fait de l'augmentation d'expression des molécules du CMH de classe I et II et de molécules co-stimulatrices telles que CD-80, CD86 et CD40.

De plus, les cellules dendritiques mûres produisent des cytokines, telles que l'interleukine 12, impliquée dans l'induction de lymphocytes T cytotoxiques CD8+ et auxiliaires CD4+. Ces cellules dendritiques expriment un phénotype CD1+, HLA-DR+, des molécules d'adhésion (CD11a, CD11c, CD54, CD80 et CD86). ^[52]

Elles peuvent être purifiées et expandues in vitro à partir de cellules CD34+ du sang, de la moelle ou de sang de cordon après mobilisation par GM-CSF ou G-CSF.

Surtout le flt-3 ligand est capable d'augmenter notablement le nombre de cellules dendritiques in vivo ^[79]. Caux.C propose de les amplifier in vitro (d'un facteur de l'ordre de 100) par culture pendant 3 semaines en présence de GM-CSF et TNF- α . ^[18]

La deuxième phase consiste à la sensibilisation des cellules dendritiques expandues par des antigènes tumoraux.

Les méthodes de sensibilisation employées à ce jour reposent sur l'utilisation d'antigènes tumoraux sous forme de protéines natives intactes, de peptides antigéniques reconnus par les lymphocytes T cytotoxiques, d'acides nucléiques et de virus recombinants.^[52]

Les cellules dendritiques ainsi sensibilisées sont ensuite injectées par voie intraveineuse ou intradermique.

Les effets anticancéreux chez la souris sont très puissants, et les premiers résultats cliniques sont très encourageants.^[52-55] Cependant, une meilleure connaissance de la biogenèse des cellules dendritiques et de leurs capacités de présentation antigénique pourrait permettre d'améliorer l'efficacité des traitements.

V-6-5- Immunothérapie anticancéreuse spécifique par les exosomes.

Outre les contacts directs avec les Lymphocytes T et la production de cytokines, les cellules dendritiques semblent également déclencher des réponses immunitaires par la sécrétion de vésicules présentatrices d'antigènes, les exosomes.^[129] Les exosomes représentent les vésicules internes des endosomes tardifs multivésiculaires ; ils sont sécrétés après fusion de la membrane externe des endosomes multivésiculaires avec la membrane cytoplasmique et on peut les comparer à des liposomes naturels^[96].

Les exosomes produits par des cellules dendritiques chargées en peptides tumoraux induisent des lymphocytes T cytotoxiques *in vivo* et éradiquent des tumeurs établies chez la souris.

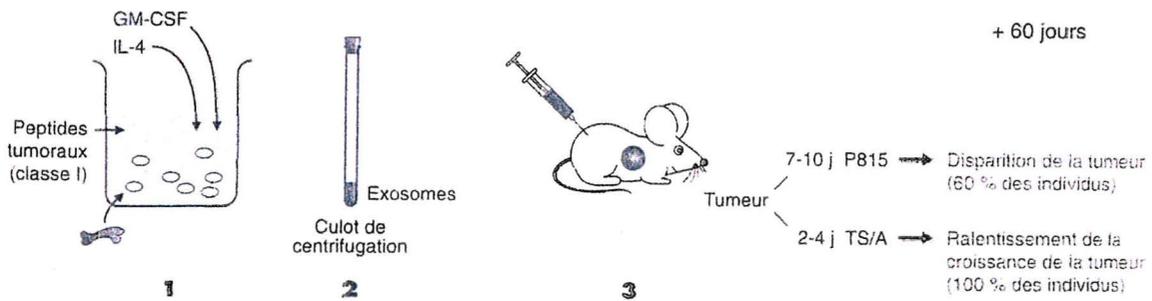
En tant que vaccin anticancéreux, les exosomes associent les avantages des cellules dendritiques (association des molécules de classe I et II du CMH avec des molécules co-stimulatrices des lymphocytes T) à ceux des vecteurs acellulaires.

Des résultats précliniques intéressants [**Figure 58**] ont été obtenus dans deux systèmes tumoraux :

- P815, un mastocytome de souris immunogène mais très agressif (syngénique des souris DBA/2, H-2d) ; pour lequel très peu d'immunothérapies efficaces ont été décrites à ce jour.
- un carcinome mammaire spontané (syngénique des souris BALB/c, H-2d).

L'utilisation thérapeutique des exosomes nécessitera cependant leur caractérisation biochimique détaillée et l'analyse fine des mécanismes moléculaires à la base de leur activité biologique.

Figure 58 : Protocole développé pour préparer les exosomes des cellules dendritiques.



-1- Sensibilisation de cellules dendritiques (produites à partir de moelle osseuse en 5 à 7 jours d'incubation en présence de GM-CSF et d'IL -4) avec des peptides purifiés à partir des molécules de classe I du CMH des cellules tumorales correspondantes.

-2- Purification des exosomes à partir du surnageant de culture des cellules dendritiques par centrifugation différentielle.

-3- Injection intradermique des exosomes purifiés (3-5 µg de protéines d'exosomes/ souris) à des souris portant des tumeurs établies (7-10 jours pour P815 et 2-4 jours pour TS/A).

Thèse soutenue par : ROCHE Guillaume Henri Maurice

**Titre : Généralités sur les lymphomes non hodgkiniens (LNH)
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie .**

Conclusion .

Les lymphomes malins non hodgkiniens regroupent un ensemble hétérogène de proliférations malignes des cellules lymphoïdes, caractérisées par des disparités autant cytologiques, histologiques que cliniques. L'essor des techniques immunohistochimiques, le développement des anticorps monoclonaux et de la biologie moléculaire ont abouti à de profonds remaniements dans la conception histogénique et dans l'identification des tumeurs lymphoïdes humaines. La synthèse de ces approches innovantes fruit d'une collaboration multidisciplinaire entre hématopathologistes, biologistes moléculaires et virologistes a abouti à la rédaction d'une nomenclature innovante, la « REAL classification ». Elle lève la majorité des principaux désaccords qui, dans le passé, ont compliqué la classification clinique de ces syndromes lymphoprolifératifs. Elle a tout d'abord semblé être un espoir tangible pour le clinicien dans l'élaboration de protocoles de polychimiothérapies et d'intensifications thérapeutiques plus adaptés. Cependant l'émergence de nouveaux échecs cliniques a du ternir l'optimisme ambiant.

Si les agents cytostatiques restent les médicaments incontournables de la plupart des hémopathies malignes, la chimiorésistance, de mécanisme complexe, explique les échecs thérapeutiques. La stagnation de l'offre thérapeutique, l'absence d'innovation structurale au sein même des grandes familles d'agents cytostatiques semblent démontrer que les moyens thérapeutiques sont ailleurs et que la question à laquelle le thérapeute se doit maintenant de répondre est :

Y a-t-il une place pour l'immunothérapie dans le traitement des lymphomes ?
Et si l'ensemble des résultats semble le confirmer, sa place reste à déterminer dans l'arsenal thérapeutique des LNH.

Cependant certains points semblent déjà acquis :

- la chimiothérapie conventionnelle gardera une place pour réduire la masse tumorale initiale, parfois déjà en association avec certaines immunothérapies (interféron α , Rituxan®) ;
- il en est de même de l'intensification thérapeutique car, à son classique rôle cytotoxique s'ajoute à présent un rôle immunosuppresseur et dans l'avenir il semble être possible de favoriser une ou l'autre de ces deux composantes ;
- le traitement ne sera plus unique mais une succession de divers séquences thérapeutiques dont chacune trouvera sa place selon divers paramètres, notamment la masse tumorale, l'état immunitaire du patient, l'évolution histologique et phénotypique du lymphome.

La réponse à ces questions et l'élaboration de nouvelles méthodes thérapeutiques notamment dans le cadre des lymphomes de faible malignité se devra d'être imaginative. Il sera probablement préférable d'envisager d'étudier des programmes de traitement, faisant appel à plusieurs moyens thérapeutiques, et visant à obtenir une rémission complète, clinique, pathologique et moléculaire du lymphome.

On peut d'ores et déjà imaginer des schémas de traitements futuristes avec les techniques disponibles :

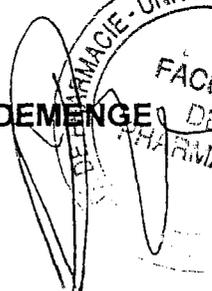
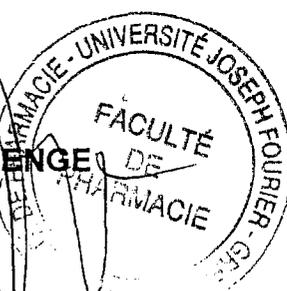
- chimiothérapie conventionnelle jusqu'à obtention d'une réponse maximale ;
- en l'absence de donneur apparenté HLA compatible ; prélèvement de CSP avec purge du greffon par sélection positive et/ou négative ;
- traitement par anticorps monoclonal (anti CD20 par exemple) soit isolé, soit associé à un radio-isotope (qui pourrait dans ce cas servir de conditionnement pour l'intensification thérapeutique) ;
- immunothérapie après autogreffe de CSH par IL-2 et/ou IFN α et/ou vaccination anti-idiotypique ;
- si un donneur apparenté HLA compatible est disponible, transplantation de CSH après conditionnement non myéloablatif, éventuellement suivi de transfusions de lymphocytes du donneur.

Si futuriste que puisse paraître ce schéma thérapeutique , il semble essentiel que le dénominateur commun à ne jamais oublier est le malade. La prescription de tout protocole thérapeutique exige une prise en charge globale du patient : clinique, paraclinique, psychosociale et ambulatoire. L'acceptation du traitement et donc une bonne observance est une composante inéluctable de toute réussite, l'affinement des traitements et une diminution de la morbidité de ceux-ci aboutit obligatoirement à une réinsertion dans le cadre social et familial. Le pharmacien d'officine, partenaire de proximité, se doit alors d'accompagner les progrès techniques de la pharmacopée ; car il est potentiellement concerné par toute innovation, puisque au décours de toute nouvelle réglementation de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé il peut se retrouver dispensateur de spécialités immunosuppressives issues de la réserve hospitalière . Il jouera alors pleinement son rôle de maillon de la chaîne de santé par une dispensation de qualité .

Vu et permis d'imprimer

Grenoble, le 19 octobre 2000

Le Doyen

P. DEMENGE



Le président de thèse


**LABORATOIRE DE VIROLOGIE
MOLECULAIRE ET STRUCTURALE
E. DROUET**
Emmanuel DROUET
Professeur des Universités

Bibliographie

- [1] AAPRO M- Oncologie médicale ; Acquisitions thérapeutiques 1998. *Med Hyg* 1999 ; 57:43-50.
- [2] ARRANZ R, GARCIA-ALFONSO P, ZAMORA P, CARRION R, GARCIA-LARANA J, LOPEZ G, LAVILLA E, LOZANO M, RAYAN C, COLOMER R, GONZALES M, FLORES E, PEREZ-MANGA G, FERNANDEZ-RANADA JM . Rôle of interferon alpha -2b in the induction and maintenance treatment of low-grade non-Hodgkin's lymphoma : results from a prospective, multicenter, trial with double randomization. *J Clin Oncol* 1998 ; 16 : 1538-1546.
- [3] AVILES A, DUQUE G, TALAVERA A, GUZMAN R. Interferon alpha 2b as maintenance therapy in low grade malignant Lymphoma improves duration of remission and survival. *Leuk Lymphoma* 1996 ; 20 : 495-499.
- [4] BANCHEREAU J, ROUSSET F- Human B lymphocytes : phenotype, proliferation, and differentiation. *Adv Immunol* 1992, 52, 125-262.
- [5] BANCHEREAU J, STEINMANN RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998 ; 392 : 242-252.
- [6] BATAILLER R- Plasmocytomes humains. Etude clinique, diagnostic et pronostic.-*Editions techniques.-Encycl. Méd. Chir. (Paris-France), Hématologie*, 13-014-C-10, 1994.
- [7] BATAILLER R- Plasmocytomes humains : épidémiologie, étiologie, physiopathologie- *Editions techniques- Encycl. Méd. Chir. (Paris-France), Hématologie*, 13-014-A-10, 1994.
- [8] BAUDUER F. Agents cytostatiques en hématologie. *Encycl Méd Chir (Elsevier,Paris), Hématologie*, 13-082-A-10, 1998.
- [9] BAZIN.H, BERNARD. A-Cellules du système immunitaire :Nomenclature, phénotype et différenciation.*Immunologie.Revillard.3^{ème} édition.*
- [10] BENDANDI M, GOCKE C, KOBRIN C, BENKO F, STERNAS L, WATSON TM, REYNOLDS CW, KWAK LK . Molecular complete remissions induced by patient-specific vaccination in most patients with follicular lymphoma . *Blood* 1998 ; 92 (suppl. 1) : 153a .

- [11] BERRYUNES MC, HIGUCHI C, YORK A, LINDGRENC, THOMSON JA, BUCKNER CD, FEFER A .
Immunotherapy with interleukin 2 with or without lymphokine-activated killer cells after autologous bone marrow transplantation for malignant lymphoma . A feasibility trial . *Bone Marrow Transplantation* 1995 ; **16**: 283-289.
- [12] BILGRAMI S, SILVA M, CARDOSO A. Immunotherapy with autologous bone marrow transplantation : rationale and results . *Exp Hematol* 1994 ; **22** : 1039-1050.
- [13] BOSLY A, BRICE P, HUMBLET Y, DOYEN C, FAILLE A, CHATCLAIN B, FRANKS C, GISSELBRECHT C, SYNRAAN M. Interleukin-2 after autologous bone marrow transplantation as consolidative immunotherapy against minimal residual disease. *Nouv Rev Fr Hematol* 1990 ; **32** : 13-16.
- [14] BOSLY A, GUILLAUME T, HUMBLET Y, STAQUET P, DOYEN C, CHATELAIN B, FRANKS CR, GISSELBRECHT C, SYMANN M. Effects of escalating doses of recombinant human interleukin-2 in correcting functional T-cell defects following autologous bone marrow transplantation for lymphomas and solid tumors . *Exp Hematol* 1992 ; **20** : 962-968.
- [15] BRICE P, BASTION Y, LEPAGE E, BROUSSE N, HAIOUN C, MOREAU P, STREATMANS N, TILLY H, TABAH I, SOLAL-CEIGNY P, for the Groupe d'étude des Lymphomes de l'adulte. Comparison in low tumor burden follicular lymphomas between an initial no treatment policy, prednimustine, or interferon alpha : a randomized study for the Groupe d'étude des Lymphomes Folliculaires. *J Clin Oncol* 1997 ; **15** : 1110-1117.
- [16] CAMPBELL MJ, ESSERMAN L, BYARS NE, ALLISON AC, LEVY R. Idiotype vaccination against murine B cell lymphoma : humoral and antitumor immunity . *J Immunol* 1990 ; **145** : 1029-1036.
- [17] CASTAIGNE S.- Leucémie à tricholeucocytes.- *Editions Techniques-Encycl. Méd. Chir. (Paris-France), Hématologie*, F.a. 13-014-H-10, 1994.
- [18] CAUX C, DEZUTTEF-DAMBUYANT C, SCHMITT D . GM-CSF and TNF α cooperate in the generation of dendritic Langherans cells . *J Exp Med* 1992 ; **360** : 258 .
- [19] CHEN TT, LEVY R . Induction of auto-antibody responses to GM-CSF by hyperimmunization with an Id-GM-CSF fusion protein . *J Immunol* 1995 ; **154** : 3105-3117.
- [20] COLE B, SOLAL-CEIGNY P, GELBER RD, SUGANO D, SEBBAN C, REYES F. Quality-of-life adjusted survival analysis of interferon alpha-2b treatment for advanced follicular lymphoma : an aid to clinical decision making . *J Clin Oncol* 1998 ; **16** : 2339-2344.

- [21] COLEMAN MP, ESTEVE J, DAMIECKI P. Trends in cancer incidence and mortality. Lyon : *IARC scientific publications*, 1993 ; **121**.
- [22] COLLINS RH, SHPILLER O, DOBYSKI WR . Donnor leucocyte infusions in 140 patients with relapsed malignancy after allogeneic marrow transplantation . *J. Clin. Oncol.* 1997 ; **15** : 433-444.
- [23] CZUCZMAN M.S, ET AL. Phase I dose escalation trial of iodine 131-labeled monoclonal antibody OKB7 in patients with non hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1993 ; **11** :2021-2029.
- [24] CZUCZMAN MS, GRILLO-LOPEZ AJ, SALEH M ET AL. IDEC-C2B8/CHOP chemoimmunotherapy in patients with low grade lymphom : interim clinical anti bcl2 (PCR) results. *Ann Oncol* 1996 ; **7** (1 Suppl.) : 56.
- [25] DANA BW, UNGER J, FISHER RI, for the Southwest oncology group. A randomized study of alpha interferon consolidation in patients low-grade lymphoma who have responded to Pro-MACE MOPP . *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998 ; **17** (suppl. 1) : 3a .
- [26] DAVIS TA, WHITE CA, GRILLO-LOPEZ AJ, VELASQUEZ WS, LINK B, MALONEY DG, DILLMAN RO, WILLIAMS ME, MOHRBACHER A, WEAVER R, DOWDEN S, LEVY R. Rituximab : first report of a phase II trial in NHL patients with bulky disease. *Blood* 1998 ; **92** (suppl. 1) : 414a.
- [27] DEACON EM, PALLESEN G, NIEDOBITECK G ET AL- Epstein-Barr virus and Hodgkin's disease : transcriptional analysis of virus latency in the malignant cells. *J Exp Med* 1993 ; **177** : 339-349.
- [28] DE BRUIN PC, JIWA M, OUDEJANS JJ ET AL- Presence of Epstein -Barr virus in extra nodal T-cell lymphomas :differences in relation to site. *Blood* 1994 ; **83** :1612-1618.
- [29] DELSOL G, AL SAATI T, LAMANT L, SELVES J ET BROUSSET P- Classification histopathologique, immunologique, cytogénétique et moléculaire des lymphomes malins non hodgkiniens. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hématologie*, 13-016-A-15.
- [30] DE NARDO G.L ET AL. 1998 Maximum tolerated dose, toxicity and efficacy of 131 I-Lym-1 antibody for fractioated radioimmunotherapy of non-hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* **16** :3246-3256.
- [31] DIVINE M.- Lymphome de Burkitt. - *Editions Techniques.- Encycl. Méd. Chir. (Paris-France), Hématologie*, 13-016-A-50, 1994.

- [32] DRENO B, LITOUX P ET HAROUSSEAU J-L- Lymphomes cutanés T.-*Editions techniques- Encycl. Méd. Chir (Paris-France) Hématologie*, 13-013-D-10, 1994.
- [33] DUMONTET C ET COIFFIER B. Lymphomes non hodgkiniens agressifs., *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris) Hématologie*, 13-016-A-20, 1998.
- [34] DYER MJ, HALE G, HAYHOE FG ET AL. Effects of CAMPATH-1 antibodies in vivo in patients with lymphoid malignancies : influence of antibody isotype. *Blood* 1989 ; **73** : 1431-1439.
- [35] ENGERT A, DIEHL V, SCHNELL R, RADSZHN A, HATWIG MT, DRILLICH S, SCHON G, BOHLEN H, TESCH H, HANSMANN ML, BARTH S, SCHINDLER J, GHETIE V, UHR J, VITETTA E . A phase-I Study of an Anti-CD25 Ricin A-Chain Immunotoxin (RFT5-SMPT-dgA) in patients with refractory Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997 ; **89** :403-410.
- [36] ENGLEMAN EG . Dendritic cells : potentiel rôle in cancer therapy . *Cytotechnology* 1997 ; **25** :1-8.
- [37] EZINE.S ET BACH J.F-Physiologie et différenciation des cellules lymphoïdes-*Editions techniques - Encycl.Méd.Chir (Paris-France),hématologie*, 13-013-A-10, Cancérologie,60-13-018-A-10,1993.
- [38] FAURE .G, RAPHAEL.M-Organes et tissus lymphoïdes, Circulation des lymphocytes. *Revillard.3^{ième} édition*.
- [39] FIERRO MT, LIAO XS, LUSSO P, ARIONE R, FORNI G, FOA R. In vitro and in vivo susceptibility of human leukemic cells to lymphokine activated killer activity. *Leukemia* 1988 ; **2** : 50-55.
- [40] GELLER RB, ESA AH , BESHONER WE, FRENDOSA CG, SANTOS GW, HESS AD . Successful in vitro graft-versus-tumor effect against an Ia-bearing tumor using cyclosporine-induced syngeneic graft-versus-host disease in the rat. *Blood* 1989 ; **74** : 1165-1170.
- [41] GISSELBRECHT C, MARANINCHI D, PICO JL, MILPIED N, COIFFIER B, DIVINE M, TIBERGHEN P, BOSLY A, TILLY H, BOULAT O, BRANDELY M. Interleukin-2 treatment in Lymphoma : a phase II multicenter study. *Blood* 1994 ; **83** : 2081-2087.
- [42] GOLDENBERG D.M ET AL.1991 Targeting, dosimetry, and radioimmunotherapy of B-cell lymphomas with iodine-131-labeled LL2 monoclonal antibody. *J Clin Oncol* **9** :548-564.
- [43] GORIN N- Vingt ans de thérapie cellulaire :LA et LNH :Succès des autogreffes de cellules souches. *Le quotidien du médecin* **6445**, 18-19.

- [44] GROSSEBARD ML, FREEDMAN AS, RITZ J ET AL. Serotherapy of B-cell neoplasms with anti B4 blocked ricin. A phase I trial of daily bolus infusion. *Blood* 1992 ; **79** : 576-585.
- [45] GROSSEBARD ML, GRIBBEN JG, FREEDMAN AS, LAMBERT JM, KINSELLA J, RABINOWE SN, ELISEO L, TAYLOR JA, BLATTER WA, EPSTEIN CL. Adjuvant immunotoxin therapy with anti B4-blocked ricin after autologous bone marrow transplantation for patients with B cells non Hodgkin's Lymphoma. *Blood* 1993 ; **81** :2263-2271.
- [46] GROSSEBARD ML, NADLER LM. Immunotoxin therapy of lymphoid neoplasms. *Sem Hematol* 1994 ; **31** : 88-97.
- [47] GROSSEBARD ML, NIEDZWIECKI D, NADLER LM, FRUTCHMAN SM, SSCUSTER M, PECORA A, LAZARUS HM, JOHNSON J, PETERSON BA, HURD DD. Anti B4 blocked ricin (anti B4-bR) adjuvant therapy post autologous bone marrow transplantation : a phase III intergroup study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998 ; **17** :3a.
- [48] GRYN J, JOHNSON E, GOLDMAN N, DEVEREUX L, GRANA G, HAGEBOUTROS A, FERNANDEZ E, CONTANTINO C, HARRER W, VINER E, GOLDBERG J . The treatment of relapsed or refractory intermediate-grade non-Hodgkin's lymphoma with autologous bone marrow transplantation followed by cyclosporine and interferon . *Bone Marrow Transplant* 1997 ; **9** :221-228.
- [49] GUILLAUME T, RUBINSTEIN DB, SYMANN M. Immune reconstitution and immunotherapy after autologous hematopoietic stem cell transplantation . *Blood* 1998 ; **92** : 1471-1490.
- [50] GUPTA RK, SUMMERS KE, LISTER TA. PCR analysis for the t(14,18) translocation in patients with recurrent follicular lymphoma following immunotherapy with rituximab. *Blood* 1998 ; **92** (suppl. 1) : 239.
- [51] HAGENBEEK A, CARDE P, MEERWALDT JH, SOMERS R, THOMAS J, DE BOCK R RAEMAKERS JMM, VAN HOOF A, DE WOLF-PETERS C, VAN GLABBECKE M for the European organization for research and treatment of cancer lymphoma cooperative group. Maintenance of remission with human recombinant interferon alpha 2a in patients with stageIII and IV low grade malignant non Hodgkin's Lymphoma. *J Clin Oncol* 1198 ; **16** : 41-47.
- [52] HART DNJ . Dendritic cells : unique leukocyte populations which control the primary immune response . *Blood* 1997 ; **90** : 3245-3250.
- [53] HESS AD , HORWITZ L, BERSHONER WE, SANTOS GW . Development of graft-versus-host disease like syndrome in cyclosporine-treated rats after syngeneic bone marrow transplantation . I. Development of cytotoxic T-lymphocytes with apparent polyclonal anti-Ia specificity including autoreactivity . *J Exp Med* 1985 ;**161** :718-725.

- [54] HORNING SJ . High-dose therapy and transplantation for low-grade lymphoma . *Hematol Oncol Clin N Am* 1997 ; **11** :919-935.
- [55] HSU F, BENIKE C, FAGNONI F, LILES T, CZERVINSKI D, TAIDI B, ENGELMAN E, LEVY R. Vaccination of patients with B cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells. *Nature Med* 1996 ; **2** :52-8.
- [56] HSU FJ, BENIKE C, FAGNONI F, TILES TM, CZERVINSKI D, TAIDI B, ENGLEMAN EG, LEVY R . Vaccination of patients with B-cells lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells . *Nature Med* 1996 ; **3** : 60-69.
- [57] HSU FJ, CASPAR CB, CZERVINSKI D. Active idiotypic vaccination following chemotherapy induces a specific anti-tumor immune response and prolongs remission in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1996 ; **7** (suppl. 3) : 19.
- [58] HSU F , CASPAR C, CSERWINSKI DK, KWAK L, LILES T, SYRENGELAS A, LASKOWSKI B, LEVY R. Tumor-specific idiotype vaccines in the treatment of patients with B-Cell lymphoma-Long term results of a clinical trial. *Blood*, **89**, 1997 : 3129-3135.
- [59] JONES RJ, AMBINDER RF, PIANTADOSI S, SANTOS GW. Evidence of a graft-versus-lymphoma effect associated with allogeneic bone marrow transplantation . *Blood* 1991 ; **77** : 649-653.
- [60] KAMINSKI M.S, ET AL. 1996 Iodine 131 anti B1 radioimmunotherapy for B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* **14** :1974-1981
- [61] KAMINSKI M.S, ET AL. I 131 anti B1 antibody for previously untreated follicular lymphoma :clinical and molecular remissions. *Proceedings Am Soc Clin Oncol* 1998 ; **17** (suppl.1) :2.
- [62] KAMINSKI M.S, ET AL. Multicenter phase III study of iodine-131 tositumomab (anti-B1 antibody) for chemotherapy-refractory low-grade or transformed low-grade non-hodgkin's lymphoma . *Blood* 1998 ; **92** (suppl.1) :316.
- [63] KHOURI IF, KEATING M, KOIBLING M, PRZEPIORKA D, ANDRELLINI P, O'BRIEN S, GIRALT S, IPOLITI C, VON WOLFF B, GAJEWSKI J, DONATO M, CLAXTON D, VENO N, ANDERSSON B, GEE A, CHAMPLIN R. Transplant-lite : induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based non ablated chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies . *J Clin Oncol* 1998 ; **16** : 2817-2824.
- [64] KNOX S, GORIS M, TRISLER K. Yttrium 90-labeled anti CD20 monoclonal antibody therapy of recurrent B-cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 1996 ; **2** : 457-462

- [65] KORBLING M, PRZEPIORKA D, HUH YO, ENGEL H, VAN BESIEEN K, GIRALT S, ANDERSON B, KLEINE HD, SEONG D, DEISSEROTH AB, ANDREEF M, CHAMPLIN R . Allogenic blood stem cell transplantation for refractory leukemia and lymphoma : potential advantage of blood over marrow allografts. *Blood* 1995 ; **85** : 1659-1665.
- [66] KUNGEMAN HG, GRIGG AP, WILKIE-BOYD K ET AL. Treatment with recombinant interferon (alpha 2b) early after bone marrow transplantation in patients at high risk of relapse . *Blood* 1991 ; **78** : 3306-3311.
- [67] KWAK LW, CAMPBELL MJ, ZELENETZ AD . Combined syngeneic bone marrow transplantation and immunotherapy of a murine B-cell lymphoma : active immunization with tumor-derived idiotypic immunoglobulin. *Blood* 1990 ; **76** : 2411-2417.
- [68] KWAK LW, CAMPBELL MJ, CZERVINSKI DK, MALONEY DG, LEVY R . Induction of immune responses in patients with B-cell lymphoma against the surface immunoglobulin idiotype expressed by their tumors . *N Engl. J. Med.* 1992 ; **327** : 1209-1215.
- [69] KWAK LW, YOUNG HA, PENNINGTON RW, WEEKS SW . Vaccination with syngenic , lymphoma-derived immunoglobulin idiotype combined with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor primes mice for a protective T-cell response . *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; **93** : 10972-10976.
- [70] KWAK LW . Tumor vaccination strategies combined with autologous peripheral stem cell transplantation. *Ann Oncol* 1998 ; **9** (suppl. 1) : 41-46.
- [71] LEFRANC.MP, FOUGEREAU.M-Structure et génétique moléculaire des immunoglobulines et des récepteurs des antigènes des cellules T.*Revillard.3^{ème} édition.*
- [72] LIU SY, PRESS OW. The potential for immunoconjugates in lymphoma therapy. *Hematol Oncol Clin N Am* 1997 ; **11** :987-1006.
- [73] LIU SJ, SHER YP, TING CC, LIAO KW, YU CP, TAO MH . Treatment of B-cell lymphoma with chimeric Ig G and single-chain Fv antibody interleukin-2 fusion proteins . *Blood* 1998 ; **92** : 2103-2112.
- [74] LIU SY, EARY JF, PETERSDORF SH, MARTIN PJ, MALONEY DJ, APPELBAUM FR, MATHEWS DC, BUSH SA, DURACK LD, FISCHER DR, GOOLEY TA, BERNSTEIN ID, PRESS OW. Follow-up relapsed B-cell lymphoma patients treated with Iodine 131 labeled anti CD20 antibody and autologous stem-cell rescue. *J Clin Oncol* 1998 ; **16** : 3270-3278.

[75] MAC LAUGHLIN P, GRILLO-LOPEZ AJ, LINK BK, LEVY R, CZUCZMAN MS, WILLIAMS ME, HEYMAN MR, BRUCKLER B, WHITE CA, CABANILLAS F, JAIN V, HO AD, LISTER J, WEY K, SHEN D, DALLAIRE BK. Rituximab chimeric anti CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma : half of patients repond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998 ; **16** : 2825-2833.

[76] MALONEY DG, LILES TM, CZERWINSKI DK, ET AL. Phase I clinical trial using escalating single dose infusion of chimeric anti CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell lymphoma. *Blood* 1994; **84**:2457-66.

[77] MALONEY DG ET COLL. IDEC-C2B8 :results of a phase I multiple dose trial in patients with relapsed non hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1997 ; **15** : 3266-3274.

[78] MALONEY DG, GRILLO-LOPEZ AJ, WHITE CA, ET AL. IDEC-C2B8 (Rituximab) anti CD-20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997 ; **90** :2188-95.

[79] MALOUM K, MERLE-BERAL H, RAPHAEL M, AZGUI Z, BINET J-L, DIGHIERO G, TRAVADE PH, CASTANG C ET CHEVRET S- Leucémie lymphoïde chronique-*Editions techniques.-Encycl. Méd. Chir. (Paris, France) Hématologie*, 13013 B²⁰,1992.

[80] MARASKOVSKY E, BRASEL K, YEEPE M . Dramatic increase in the number of fonctionnally mature dendritic cells in flt3L ligand-treated mice . *Nature Med* 1997 ; **3** : 625-629.

[81] MARGOLIN KA, WRIGHT C, FORMAN JJ . Autologous bone marrow purging by in situ IL-2-activation of endogenous killers cells . *Leukemia* 1997 ; **11** : 723-727.

[82] MARSH JW, SRINIVASOCHAR K, NEVILLE DJ. Antibody -toxin conjugation. *Cancer Treatment Rev* 1988 ; **37** :213-237.

[83] MC SWEENEY PA, WAGNER JL, MALONEY DG, SHIZURU WI, BRYANT E, CHAUNCEY TR, FLOWERS MED, KAUFFMAN M, MINOR CS, NASH RA, BLUME K, STORB R. Out patient PBSC allografts using immunosuppression with low-dose TBIbefore and cyclosporine and mycophenolate mofetil after transplant . *Blood* 1998 ; **92** : 519a .

[84] NAGLER A, ACKERSTEIN A, OR R, NAPARSTEK E, SLAVIN S. Immunotherapy with recombinant human interleukin 2 (rIL-2) and recombinant alpha interferon in Lymphoma patients post-autologous marrow or stem cell transplantation. *Blood* 1997 ; **89** : 3951-9359.

- [85] NELSON EL, LI X, HSU FJ . Tumor-specific cytotoxic T-lymphocyte response after idiotype vaccination for B-cell non-Hodgkin's lymphoma . *Blood* 1996 ; **88** : 580-589.
- [86] NEUBAUER MA, BERRUYNES MC, THOMSON JA, BENSINGER WI, LINDGREN CG, BUCKNER CD, FEFER A. Lymphokine-activated killer (LAK) precursor cell activity is present in infused peripheral blood stem cells and in the blood after autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994 ; **13** : 311-317.
- [87] NGUYEN D.T., AMESS J.A, DOUGHTY H, HENDRY AND DIAMOND L.W. IDEC-C2B8 anti CD20 (Rituximab) immunotherapy in patients with low-grade non-hodgkin's lymphoma and lymphoproliferative disorders : evaluation of response on 48 patients. *Eur J Haematol* 1999 : **62** : 76-82.
- [88] PATTE C, TERRIER-LACOMBE MJ ET BAYLE C. Lymphomes malins non Hodgkiniens de l'enfant : Classifications anatomopathologiques, présentations cliniques et traitements. *Encycl Méd Chir (Elsevier-Paris), Hématologie*, 13-016-A-70, *Pédiatrie*, 4-082-J-30, 1996.
- [89] PETERSON BA, PETRONI G, OKEN MM, JOHNSON JL, BARCOS M, COOPER MR. Cyclophosphamide versus cyclophosphamide+interferon alpha-2b in follicular low-grade lymphomas : an intergroup phase III trial . *Proc Am Soc Clin Oncol* 1997 ; **6** : 48A .
- [90] PIRO L, WITHE CA, GRILLO-LOPEZ AJ, JANAKORAMAN N, BECK TM, SELANDER K, DOWDEN S, CZUCZMAN M, LYNCH JW, KOLTZJE, JAIN V. Rituximab : interim analysis of a phase II study of once weekly times 8 dosing in patients with relapsed low-grade or follicular non-hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997 ; **90** : 510a.
- [91] PRESS OW, EARY JF, APPELBAUM FR. Radio-labeled-antibody therapy of B-cell lymphoma with autologous bone marrow support. *N Engl J Med* 1993 ; **329** :1219-1224.
- [92] PRESS OW, EARY JF, APPELBAUM FR, MARTIN P, NELD W, MATHEWS D, FISHER D, GLENN S, BERNSTEIN LD. Phase II trial of 131I-B1 (anti CD20) antibody therapy with autologous stem cell transplantation for relapsed B cell lymphoma. *Lancet* 1995 ; **346** : 336-340.
- [93] RANTANATHARATHORN V, UBERTE J, KARANES C, ABELLA E, LUM LG, CUMMINGS G, SENSENBRENNER LL. Prospective comparative trial of autologous versus allogeneic transplantation in patients with non-Hodgkin's lymphoma . *Blood* 1994 ; **84** :1050-1057.
- [94] RANTANATHARATHORN V, UBERTY J, KARANES C. Phase I study of alpha-interferon augmentation of cyclosporine-induced graft-versus-host disease in recipients of autologous bone marrow transplantation . *Bone Marrow Transplant* 1994 ; **13** :625-628.

- [95] RAPHAEL M. Virus d'Epstein-Barr et lymphomes. *La lettre de l'infectiologue-Tome X*, 5 :202-205.
- [96] RAPOSO G, NIJMAN HW, STOORVOGEL W. Lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med* 1996 ; 183 : 1-12.
- [97] « Rituximab, des résultats préliminaires encourageants » *Rev Prescrire* 1999 ; 19 N°192 :111.
- [98] ROBBINS PF, KAWAKAMI Y. Human tumor antigens recognized by T cells. *Curr Opin Immunol* 1996 ; 8 : 628-36.
- [99] ROHATINER AZS, GREGORY W, PETERSON B, SMALLEY R, SOLAL-CELIGNY P, HAGENBEEK A, BYNENS L, UNTERHALT M, CHISESI T, AVILES A, LISTER TA. A meta analysis of randomized trials evaluating the role of interferon as treatment for follicular lymphoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998 ;17 :4a.
- [100] ROHATINER A, CROWTHER D, RADFORD J, PAPPAS V, DEAKIN D, LOVE S, PRICE C, WILSON A, LISTER TA. A randomised controlled trial to evaluate the rôle of interferon as initial and maintenance therapy in patients with follicular lymphoma . (Soumis pour publication).
- [101] ROSENBERG SA. Cancer vaccines based on the identification of genes encoding cancer regression antigens *Immunol Today* 1997 ; 18 :175-82.
- [102] RUSKONE-FOURMESTRAUX A. Lymphomes non Hodgkiniens primitifs du tube digestif. *Encycl Méd Chir (Elsevier-Paris), Gastro-entérologie*, 9-088-A-10, *Hématologie*, 13-018-A-10 1998.
- [103] SCHENKEIN DP, DIXON P, DESFORGES JF, ET AL. Phase I/II study of cyclophosphamide, carboplatin and etoposide hematopoietic stem-cell transplantation with post-transplant interferon alpha 2b for patients with lymphoma and Hodgkin's disease . *J Clin Oncol* 1994 ; 12 : 2423-2431.
- [104] SCHULTZE JL . Vaccination as immunotherapy for B-cell lymphoma . *Hematol Oncol* 1997 ; 15 : 129 -139.
- [105] SCOTT SD. Rituximab : a new therapeutic monoclonal antibody for non hodgkin's lymphoma. *Cancer Practice* 1998 ; 6 :195-7.
- [106] SLAVIN S, ACKERSTEIN A, KEDAR E . Induction of cell-mediated IL-2 activated antitumor responses in conjunction with autologous and allogeneic bone marrow transplantation . *Transplant Proc.* 1991 ; 23 : 802-803

- [107] SLAVIN S, NAGLER A, NAPASTEK E. Non myeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and non malignant hematologic diseases. *Blood* 1998 ; **91** : 756-763.
- [108] SLAVIN S, NAGLER A. Immunotherapy in conjunction with autologous and allogeneic blood or marrow transplantation in Lymphoma. *Ann oncol* 1998 ; **9** : S31-9.
- [109] SMALLEY RV, ANDERSON JW, HAWKINS MJ , BHIDE V, O'CONNELL MJ , OKEN MM, BORDEN EC. Interferon alpha combined with cytotoxic chemotherapy for patients with non-Hodgkin's lymphoma . *N Engl J Med* 1992 ; **327** : 1336-1341 .
- [110] SMALLEY RV, WELLER E , HAWKINS M, OKEN M, O'CONNELL M, HAASE-STAZ S, BORDEN E . Interferon in non-Hodgkin's lymphoma . An update of the ECOG-COPA vs. I-COPA TRIAL . *Blood* 1998 ; **92** : 486a.
- [111] SOIFFIER R, MURRAY C, COCHRAN K, CAMERON C, WANG E, SCHOW PW, DALEY JF, RITZ J . Clinical and immunologic effects of prolonged infusion of low-dose recombinant interleukin-2 after autologous and T-cell depleted allogeneic bone marrow transplantation . *Blood* 1992 ; **79** : 517-523.
- [112] SOLAL-CELIGNY PH.- Lymphomes non hodgkiniens- *Editions Techniques- Encycl. Méd. Chir. (Paris, France), Hématologie*, 13016A¹⁰,1991.
- [113] SOLAL-CELIGNY P, LEPAGE E, BROUSSE N. Recombinant interferon-alpha combined with a doxorubicin-containing regimen in advanced follicular lymphoma patients. *N Engl J Med* 1993 ; **329** :1608-1614 .
- [114] SOLAL-CELIGNY P, BROUSSE N, TILLY H. Lymphomes. *Paris : Frison Roche* 1997 : 171-203.
- [115] SOLAL-CELIGNY P-Lymphomes non hodgkiniens indolents. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris),Hématologie*, 13-016-A-30, 1998.
- [116] SOLAL-CELIGNY P, LEPAGE E, BROUSSE N, TENDLER CL, BRICE P, HAIOUN C, GABARRE J, PIGNON B, TERTIAN G, BOUABDALLAH R, ROSSI JF, DOYEN C, COIFFIER B . Doxorubicin-containing regimen with, or withoutb interferon alpha-2b for advanced follicular lymphomas : final analysis of survival and toxicity in the Groupe d'étude des lymphomes folliculaires 86 Trial . *J Clin Oncol* 1998 ; **16** : 2332-2338 .
- [117] SOLAL-CELIGNY P, COLOMBAT P. Rôle de l'immunothérapie dans le traitement des Lymphomes non Hodgkiniens. *Hématologie* 1999 ; **5** : 393-404.

- [118] SOLAL-CELIGNY PH- Progrès récents dans le traitement des lymphomes malins par immunothérapie- *Biotech Médecine* 12, 1999.
- [119] SOLAL-CELIGNY P- Lymphomes folliculaires et anticorps monoclonaux. *MT* 1999 ;5 : 467-472.
- [120] STEINMAN RM, COHN ZA . Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs in mice . Morphology , quantification , tissue distribution . *J Exp Med* 1973 ;11 : 1142-1149 .
- [121] STEVENSON FK, ZHU D, KING CA, ASHWORTH LJ, KUMAR S, HAWKINS RE. Idiotype DNA vaccines against B-cell lymphoma . *Immunol Rev* 1995 ; 145 : 211-228 .
- [122] SYRENGELAS AD, CHEN TT, LEVY R . DNA immunization induces protective immunity against B-cell lymphoma . *Nature Med* 1996 ; 2 : 1038-1041 .
- [123] TAO MH, LEVY R . Idiotype / granulocyte macrophage colony-stimulating factor fusion protein as a vaccine for B-cell lymphoma . *Nature* 1993 ; 362 :755-758 .
- [124] UNTERHALT M, HERRMANN R, NAALER M. Significant prolongation of disease-free survival in advanced low grade non-Hodgkin's Lymphoma by interferon maintenance. *Blood* 1995 ;10 :439A.
- [125] VALLERO D. Immunotoxins : will their clinical promise be fulfilled ? *Blood* 1994 ; 83 :309-317.
- [126] VAN BESIEEN K, DE LIMA M, GIRALT S. Management of lymphoma recurrence after allogeneic transplantation : the relevance of graft-versus-lymphoma effect . *Bone Marrow Transplantat* 1997 ; 19 : 977-982.
- [127] VAN BESIEEN K, SOBOCINSKI KA, ROWLINGS PA, MRPHY SC, ARMITAGE JO, BISHOP MR, CHAEKAL OK, GALE RP, KLEIN JP , LAZARUS HM, MC CARTHY PL, RAMAEKERS JMM, REIFFERS J, PHILIPS G, SCHATTEBERG AVMB, VERDONCK LF, VOSE JM, HOROWITZ MM . Allogeneic bone marrow transplantation for low-grade lymphoma . *Blood* 1998 ; 92 : 1832-1836.
- [128] VIVANCOS P, GRANENA JR A, SARRA J, GRANENA A. Treatment with interleukin 2 (IL-2) and interferon (IFN α 2b) after autologous bone marrow or peripheral blood stem transplantation in onco-hematological malignancies with a high risk of relapse. *Bone Marrow Transplant* 1999 ; 20 : 169-172.
- [129] ZITVOGEL L, REGNAULT A. Eradication of established tumors using a novel cell-free vaccine : dendritic cell-derived exosomes. *Nat Med* 1998 ; 4 : 594-600.

[130] ZITVOGEL L, REGNAULT A. Immunothérapie antitumorale par les exosomes des cellules dendritiques. *Médecine/sciences* 1998 ; **14** :826-7.

[131] ZITVOGEL L, FAURE L. L'immunité antitumorale : des concepts à l'immunothérapie active spécifique. *Médecine/Sciences* 1999 ;**15** : 939-949.

[132] ZOU L, TEDDER T . CD34+ blood monocyte can differentiate into fonctionnally mature CD83+ dendritic cells . *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; **93** : 2588-2593.

Généralités sur les Lymphomes non Hodgkiniens (LNH)
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie
Abréviations et symboles.

Ac anticorps
AcMo anticorps monoclonal
ACVBP protocole de polychimiothérapie adriamycine, vindésine, cyclophosphamide, bléomycine, prédnisolone
ADCC activité cellulaire cytotoxique anticorps dépendante
Ag antigène
ATLL adult T cell leukemia/ lymphoma
BALT tissu lymphoïde associé aux bronches
BcR B cell receptor
CALLA common acute lymphoblastic leukemia/ lymphoma antigen
CD marqueur de différenciation ou cluster of differentiation
CDR complementarity determining regions
CHOP protocole de polychimiothérapie cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine, predniso(lo)ne
CMH complexe majeur d'histocompatibilité
CS cellule souche
CsA cyclosporine
CSH cellules souches hématopoïétiques
CSP cellules souches proximales
CTL lymphocytes T CD8+ cytotoxiques antitumoraux
CVP protocole de polychimiothérapie cyclophosphamide, vincristine, prednisone
EBV epstein barr virus
EMA antigène membranaire épithéliale
GALT gut associated lymphoid tissue
GELF groupe d'étude des lymphomes folliculaires
GLSG german lymphoma study group
GVH graft versus host
GVLy graft versus lymphoma
HAMA human antimono-clonal antibodies
HIV virus de l'immunodéficience humaine
HHV human herpes virus
HLA human leucocyte antigen
HML human mucosal lymphocyte
HTL-V1 human T cell lymphoma virus type 1
HTL-V2 human T cell lymphoma virus type 2
ICT irradiation corporelle totale
IDR intradermoréaction
IFN interféron
IHC immuno-histochimie
IL interleukine
IPI Index pronostique international
IPSID Immunoproliferative small intestinal disease
LAI lymphadénopathie angio-immunoblastique
LAK lymphokine activated killers
LAL leucémie aiguë lymphoïde
LB lymphome de burkitt
LCR liquide céphalo-rachidien
LCTE lymphome cutané T épidermotrope

Généralités sur les Lymphomes non Hodgkiniens (LNH)
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie
Abréviations et symboles.

LDH lactico-déshydrogénase
LLC leucémie lymphoïde chronique
LNH lymphome non hodgkinien
LPTD lymphome malin non hodgkinien du tube digestif
MALT formations lymphoïdes associées aux muqueuses
m-BACOD protocole de polychimiothérapie méthotrexate, bléomycine, doxorubicine, cyclophosphamide, vincristine, dexaméthasone
MDR résistance multidrogue
MGUS gammopathie monoclonale
MO microscope optique
NK natural killer
OERTC organisation européenne de recherche et de traitement des cancers
PCR polymérase chaîne réaction
PCT plasmocytome
Pro MACE-MOP protocole de polychimiothérapie etoposide, cyclophosphamide, doxorubicine, prednisone, cytarabine, bléomycine, vincristine, méthotrexate
PACOP protocole de polychimiothérapie procarbazine, cyclophosphamide, vincristine, prednisone, doxorubicine
REAL classification revised european american classification for lymphoid neoplasm
slg Immunoglobuline de surface
TAA tumor antigene associated
TcR T cell receptor
TdT terminal désoxynucléotidyl transférase
TNF tumor necrosis factor
T-PLL leucémie polymphocytaire T
VIP peptide intestinal vasoactif
VTGM vaccins tumoraux génétiquement modifiés
WF working formulation



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.



ROCHE (guillaume). – Généralités sur les Lymphomes non Hodgkiniens (LNH)-
Thérapeutiques classiques et perspectives d'immunothérapie – 169 f., ill., tabl.

Th. D. : Pharm. : Grenoble : 2000 ; N° :

- RESUME

Les lymphomes non hodgkiniens regroupent un ensemble hétérogène de syndromes lymphoprolifératifs issus des lymphocytes T ou B, dont l'incidence actuelle ne cesse de croître dans tous les pays. Ces affections se caractérisent par une grande hétérogénéité clinique et pronostique. Mais l'évolution des techniques immunohistochimiques a révolutionné la caractérisation de la cellule lymphoïde et par là même l'approche du clinicien face à ces tumeurs lymphoïdes. De profonds remaniements dans la conception histogénétique de ces tumeurs lymphoïdes ont abouti à l'élaboration de la REAL classification (Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasm), proposée par l'International Lymphoma Study Group. Elle intègre l'ensemble des progrès conceptuels et techniques réalisés dans la connaissance des proliférations lymphoïdes. Initiant un langage commun et multidisciplinaire elle permet aux différentes équipes de réviser et de redéfinir le rôle des chimiothérapies dans la thérapeutique de ces affections. Elle a donc, tout d'abord, semblé être un espoir tangible pour le clinicien dans l'élaboration de polychimiothérapies innovantes et d'intensification thérapeutiques plus adaptées. Cependant l'émergence de nouveaux échecs cliniques a du ternir l'optimisme ambiant. Il a fallu alors constater que dans le traitement des lymphomes non hodgkiniens, la chimiothérapie conventionnelle ou intensifiée montre actuellement ses limites. Depuis environ cinq à dix ans, il apparaît que l'immunothérapie constitue l'un des principaux compléments de la chimiothérapie et que l'amélioration du pronostic viendra probablement de leur association. L'immunothérapie est constituée par l'ensemble des moyens thérapeutiques permettant de corriger les déficits immunitaires et/ou d'amplifier les mécanismes de défense anti-tumorale observés au cours du développement et de l'évolution des lymphomes non hodgkiniens. Ces moyens semblent actuellement très multiples et la place de chacun d'eux reste encore imprécise.

MOTS CLES

- LYMPHOMES NON HODGKINIENS (LNH) -
- MARQUEUR DE DIFFERENCIATION -
- ANTICORPS MONOCLONAL ACMO -
 - REAL CLASSIFICATION -
 - IMMUNOPHENOTYPE -
 - CHIMIOThERAPIE-
 - IMMUNOTHERAPIE-

JURY

Président : DROUET, Emmanuel

Membres : RIONDEL, Jacqueline

ALARCON, Jean louis

DATE DE SOUTENANCE

6 Décembre 2000