

CARACTERISTIQUES CYTOLOGIQUES ET IMMUNOPHENOTYPIQUES DES LEUCEMIES A TRICHOLEUCOCYTES : A PROPOS DE 6 CAS.

Emna Gouider, Naouel Ben Salah, Wijden El Borgi, Raouf Hafsia

Service d'Hématologie Biologique Hôpital Aziza Othmana Tunis Tunisie

E. Gouider, N. Ben Salah, W. El Borgi, R Hafsia

E. Gouider, N. Ben Salah, W. El Borgi, R Hafsia

CARACTERISTIQUES CYTOLOGIQUES ET IMMUNOPHENOTYPIQUES DES LEUCEMIES A TRICHOLEUCOCYTES : A PROPOS DE 6 CAS.

CYTOLOGY AND IMMUNOPHENOTYPE FEATURES OF HAIRY CELL LEUKAEMIA : ABOUT 6 CASES.

LA TUNISIE MEDICALE - 2008 ; Vol 86 (n°02) : 118 - 121

LA TUNISIE MEDICALE - 2007 ; Vol 86 (n°02) : 118 - 121

R É S U M É

Pré-requis : La leucémie à tricholeucocytes est un syndrome lymphoprolifératif Brare.

Objectifs : Préciser les caractéristiques cytologiques et immunophénotypiques.

Méthodes : Nous rapportons une série de 6 cas de leucémies à tricholeucocytes diagnostiqués au Service d'Hématologie Biologique de l'Hôpital Aziza Othmana de Tunis.

Résultats : Le frottis sanguin objective la présence de tricholeucocytes dans 5 cas. L'immunophénotypage objective une population B monoclonale en fenêtrant sur l'expression du CD19 et le signal SSC. La positivité du CD103 est notée dans 5 cas et le signal CD11c est intense dans tous les cas.

Conclusion : L'immunophénotypage est d'un grand apport dans le diagnostic des leucémies à tricholeucocytes.

S U M M A R Y

Background : Hairy cell leukemia is a rare lymphoproliferative disorder.

Aim : with cytological and immunophenotypic features.

Methods : We report 6 cases of hairy cell leukemia diagnosed in the Biological Department of Hematology at the Aziza Othmana Hospital of Tunis.

Results : Hairy cells was observed in blood smears of 5 cases. Flow cytometry analysis shown monoclonal a monoclonal population B while gating on the expression of the CD19 and SSC signal. The positivity of the CD103 is noted in 5 cases and the CD11c signal is intense in all the cases.

Conclusion : Immunophenotype is of great interest in the diagnosis of hairy cell leukemia.

M O T S C L É S

Leucémie à tricholeucocytes, Cytométrie de flux, Anticorps monoclonaux, Tricholeucocytes, CD103, CD11c.

KEY WORDS

Hairy cell leukemia, Flow cytometry, Monoclonal antibodies Hairy cell, CD103, CD11c.

خلية شعر اللوكيميا امر نادر ليمبوبروليفيراتيبي الفوضى.

الباحثون : أ. قويدر، ن. بن سلامة، و. البرجي، رحفصة

الهدف : يممونوبهينوتيبك الفحص الخلوي ومزاياها.

الأساليب : نحن التقرير 6 حالات اللوكيميا خلية شعر المشخصه البيولوجية ادارة الدم في مستشفى ازيز وثمانا تونس.

النتائج : شعر وحظ في خلايا الدم مسحات من 5 حالات. جهاز عد الخلايا اظهر تحليل حيدة المستعمره أ ب حيدة المستعمره السكان بينما غاتينتينغ على التعبير للإشارة كد 19 والتعاون فيما بين بلدان الجنوب. في بالفيروس من كد 103 يذكر في 5 حالات وكذاك اشارة مكثفة في جميع الحالات.

النامية : يممونوفينوتيبك يحظى باهتمام كبير في تشخيص خلية شعر اللوكيميا

الكلمات الأساسية : خلية شعر اللوكيميا، وجهاز عد الخلايا الاجسام المضاده وحيدة المستعمره شعر خلية كد 103، كد11ك.

La leucémie à tricholeucocytes a été décrite pour la première fois en 1920 [1,2]. Elle représente 2% de toutes les leucémies. Son incidence est estimée à 600 nouveaux cas /an aux USA et 1 nouveau cas pour 100 000 habitants/an en France [3]. Elle fait partie des syndromes lymphoprolifératifs B matures d'après la classification des hémopathies de l'OMS. Elle est caractérisée par une infiltration diffuse splénique et médullaire par des cellules lymphoïdes B particulières par leur aspect chevelu [4]. Le diagnostic cytologique de cette hémopathie n'est pas

toujours évident : les tricholeucocytes étant rares dans le sang périphérique et la ponction médullaire difficile du fait d'une myélofibrose. La biopsie médullaire est d'une aide diagnostique considérable. L'immunophénotypage des cellules sanguine permet d'identifier les rares tricholeucocytes. Nous rapportons six cas de leucémies à tricholeucocytes diagnostiqués sur une période d'une année, en précisant leurs caractéristiques cytologiques et immunophénotypiques.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les prélèvements sanguins sont réalisés sur EDTA et rapidement analysés en cytométrie de flux. Une numération formule sanguine et un frottis au doigt sont systématiquement réalisés. Les cellules sont lavées au PBS, puis incubées avec les anticorps monoclonaux couplés à différents fluorochromes (FITC, PE, PECy5). Après lyse des globules rouges, les cellules sont acquises et analysées à l'aide d'un cytomètre Beckman Coulter XL MCL®. Le fenêtrage des cellules se fait sur l'expression du CD19 et le signal SSC (structure side scatter). Le panel d'anticorps utilisé dans notre étude comporte le CD19, CD5, CD3 CD20, CD11c, CD22, CD103, CD25, CD23, CD79b, FMC7, chaînes légères kappa et lambda. Résultats : La sex ratio M/F est de 5. L'âge moyen est de 44,6 ans (extrêmes : 22-68 ans). La leucocytose moyenne est de 6916/mm³. La leucopénie est notée dans 2 cas et l'hyperleucocytose dans 1 cas. L'anémie est retrouvée dans 5 cas. La thrombopénie est notée dans tous les cas. Le frottis sanguin révèle la présence de rares tricholeucocytes dans 3 cas (figure 1), de nombreux tricholeucocytes dans 2 cas et l'absence de tricholeucocytes dans 1 cas. L'analyse immunophénotypique (tableau 1) objective une population monoclonale B CD19+ ayant un signal intense en SSC et qui exprime le CD20 de façon intense dans tous les cas. Le CD3 est négatif dans tous les cas. Ces

cellules expriment également le FMC7 dans 5 cas/6. Le CD5 et le CD23 sont négatifs dans tous les cas. Le CD103, marqueur caractéristique des tricholeucocytes, est retrouvé dans 5 cas/6. Le CD11c est exprimé dans tous les cas de façon intense. Le CD25 est retrouvé dans les 5 cas qui expriment le CD103. Le score de Matutes est ≤ 1 dans tous les cas. L'examen anatomopathologique de la biopsie ostéo médullaire réalisée dans 2 cas, a confirmé d'emblée le diagnostic dans un cas et après une étude immunohistochimique dans l'autre cas.

Figure n°1 : Tricholeucocyte circulant.

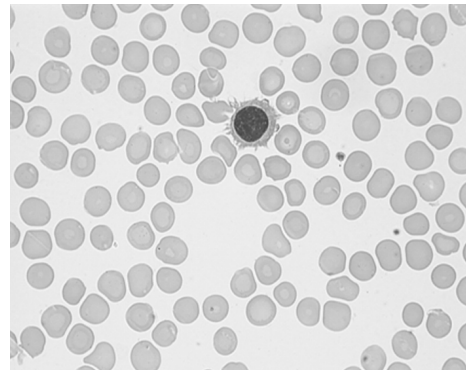


Tableau n°1 : Immunophénotypage des tricholeucocytes sanguins (notre série)

	GB/mm ³	Matutes	CD19 CD20	CD5	CD23	FMC7	CD22	CD79b	CD 103	CD11c	CD25	CD3
1	17900	1	+	0	0	+	F	f	0	F	0	0
2	5000	0	+	0	0	0	F	F	+	F	+	0
3	5900	0	+	0	0	+	F	F	+	F	+	0
4	2300	1	+	0	0	+	F	f	+	F	+	0
5	3400	0	+	0	0	+	F	F	+	F	+	0
6	8100	0	+	0	0	+	F	F	+	F	+	0

+ positif, 0 négatif, F forte intensité, f faible intensité

DISCUSSION

La leucémie à tricholeucocytes est une hémopathie lymphoïde B rare. Une série tunisienne publiée rapporte seulement 8 cas diagnostiqués sur une période de 20 ans [5]. Nous rapportons 6 cas diagnostiqués sur une année. L'introduction de l'immunophénotypage dans l'exploration des syndromes lymphoprolifératifs B chroniques pourrait expliquer l'augmentation du nombre de cas diagnostiqués dans notre laboratoire. Le tableau clinico-biologique typique est caractérisé par une splénomégalie (SMG), une difficulté d'aspiration de la moelle osseuse, une mono, bi ou pancytopenie et la présence de tricholeucocytes au frottis sanguin [6,7,8]. La leucopénie est habituelle dans la leucémie à tricholeucocytes, alors que l'hyperleucocytose caractérise la forme variante. Celles-ci représentent 10-20% des cas de leucémies à tricholeucocytes [9]. L'anémie et la thrombopénie sont en partie la conséquence de l'hypersplénisme. La recherche des tricholeucocytes au frottis sanguin nécessite des frottis de bonne qualité et bien colorés, ainsi qu'une lecture minutieuse et

attentive. Les tricholeucocytes sont des cellules de grande taille, avec un cytoplasme étendu, faiblement basophile et à contours irréguliers avec des expansions cytoplasmiques, d'où le terme de cellules chevelues ou tricholeucocytes. Le noyau est souvent ovoïde et excentré. Il peut être arrondi ou réniforme. La chromatine est fine et souvent nucléolée [10]. Dans la forme variante, la recherche des tricholeucocytes sanguins est plus aisée et pose le problème de diagnostic différentiel avec le lymphome splénique à lymphocytes villeux [11,12,13]. Les expansions cytoplasmiques des tricholeucocytes sont irrégulières, de tailles inégales et disposées sur tout le pourtour cytoplasmique, alors qu'elles sont fines et rassemblées à un ou deux pôles de la cellule dans le cas du lymphome splénique à lymphocytes villeux [10]. La cytochimie (phosphatase acide tartrate résistante) et la DBA44 peuvent aider au diagnostic mais ne sont pas spécifiques [14, 15]. L'immunophénotypage est d'une aide considérable. Il est recommandé de travailler sur des cellules aussi fraîches que possible, en effet les tricholeucocytes sont rares et l'apoptose peut interférer sur la

mise en évidence de ces cellules [10,16]. La faible cellularité des prélèvements constitue effectivement un inconvénient majeur d'où la nécessité d'étudier les tricholeucocytes au minimum en triple marquage. Le développement des cytofluoromètres et le multimarquage permettent de détecter de très faibles populations cellulaires de tricholeucocytes (jusqu'à 0.5% de tricholeucocytes) [17, 18]. Les tricholeucocytes sont caractérisés par l'expression du CD19 avec un signal intense en SSC du fait des expansions cytoplasmiques. Cette caractéristique permet de les repérer facilement sur un dot-plot SSC/CD19 [10,16]. La leucémie à tricholeucocytes est typiquement CD19+, CD5-, CD20+, CD23-, FMC7+, CD22+, CD79b+, CD11c+ fort, CD103+ et CD25+ [19, 20,21]. L'intensité du CD20 est forte, telle que dans tous les syndromes lymphoprolifératif B non LLC, de même que celle du CD22 et du CD79b [10]. Le CD103, marqueur caractéristique des leucémies à tricholeucocytes, peut manquer dans 5% des cas et en particulier dans les formes variantes. C'est en effet le marqueur le plus discriminant, mais il a également été exceptionnellement rapporté dans le lymphome splénique de la zone marginale [10, 20, 21]. Le CD11c est un marqueur non spécifique, exprimé par les granulocytes, les monocytes, les cellules NK et par une petite population de lymphocytes B et T normaux. Il est toujours exprimé dans la leucémie à tricholeucocytes, mais également dans d'autres syndromes lymphoprolifératifs B tels que la leucémie lymphoïde chronique et le lymphome splénique de la zone marginale. Cependant, l'intensité du CD11c au cours de la leucémie à tricholeucocytes est 30 fois plus importante que dans le lymphome splénique de la zone marginale et la leucémie lymphoïde chronique. Une intensité aussi importante est également rapportée dans la leucémie à prolymphocytes. Ainsi l'expression de CD11c avec une forte intensité est un critère diagnostique intéressant [10, 22, 23]. Le CD25, récepteur à l'interleukine, est exprimé dans 90% des leucémies à tricholeucocytes mais il est non spécifique, en effet il est retrouvé dans 50% des leucémies lymphoïdes chroniques. Son

REFERENCES

1. Bouroncle BA, Wiseman BK, Doan CA, Leukemic reticuloendotheliosis. *Blood* 1958 ; 13 : 609-630
2. Shrek R, Donnelly WJ, "Hairy" cells in blood in lymphoreticular neoplastic disease and "flagellated" cells of normal lymph nodes. *Blood* 1966 ; 27 : 199-211
3. Rousse M, Malet M, Troussard X, Leucémie à tricholeucocytes. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2006, 379 : 19-20
4. Montserrat E, Chronic lymphoproliferative disorders. *Curr Opin Oncol* 1997 ; 9 : 34-41
5. Medini Manai Z, Meddeb B, Lakhali R, Ben Abid H, BelHadji Ali Z, BenOthman T, Hafsia A, Hairy cell leukemia: report of 8 cases. *Tunis Med*. 2001 ; 79 : 681-5.
6. Polliack A, Hairy cell leukemia: biology, clinical diagnosis, unusual manifestations and associated disorders. *Rev Clin exp Hematol* 2002 ; 6 : 366-88
7. Zuzel M, The biology of hairy cells. *Best Practice&Research Clinical Haematology* 2003,16 : 1-13
8. Savoie L, Johnston JB, Hairy cell leukaemia. *Curr Treat Options Oncol*. 2001 ; 2 : 217-24
9. Cessna MH, Hartung L, Tripp S, Perkins SL, Bahler DW, Hairy cell leukemia variant : fact or fiction. *Am J Clin Pathol* 2005 ; 123 : 132-8

expression serait plus intense dans les leucémies à tricholeucocytes sans pour autant être assez discriminante telle que l'intensité du CD11c [10, 21]. Dans notre série, le CD103 est retrouvé dans 5 cas, mais il n'est pas exprimé dans la forme variante hyperleucocytaire. De même, le CD25 n'est pas exprimé dans cette forme. Ainsi, il n'existe pas un seul marqueur permettant de différencier la leucémie à tricholeucocytes des autres syndromes lymphoprolifératifs B [24,25]. La confrontation des données cliniques, cytologiques et immunophénotypiques avec la forte expression des marqueurs panB (CD19 et CD20) et les marqueurs caractéristiques de la leucémie à tricholeucocytes (CD103, intensité du CD11c et CD25) permet de retenir le diagnostic de la leucémie à tricholeucocytes. Une étude serbe analysant les données immunophénotypique de 12 leucémies à tricholeucocytes retrouve des résultats similaires aux nôtres et propose un système de score pour le diagnostic. Un point attribué pour la positivité du CD19, CD11c, CD25 et CD103. Aucun patient n'a un score <2 [26]. L'application de ce score sur notre série retrouverait effectivement un score à 4 dans 5 cas et à 2 dans la forme variante (cas n°1 du tableau I).

Le développement des cytofluoromètres et le multimarquage permettent de détecter de très faibles populations cellulaires de tricholeucocytes (jusqu'à 0.5% de tricholeucocytes) permettant actuellement d'étudier la maladie résiduelle après traitement [27,28].

CONCLUSION

La cytologie sanguine à elle seule, permet d'évoquer le diagnostic lors d'une lecture attentive, sur des frottis soigneusement confectionnés et colorés. Le myélogramme est souvent non contributif au diagnostic du fait de la myélofibrose. L'immunophénotypage du sang périphérique, examen non invasif, permet souvent de faire le diagnostic de leucémie à tricholeucocytes sur de rares cellules.

10. Kelly K Bethel, Robert W Sharpe, Pathology of hairy-cell leukaemia. *Best Practice&Research Clinical Haematology* 2003 ; 16 : 15-31
11. Mollejo M, Menarguez J, Lloret E, et coll. Splenic marginal zone lymphoma: a distinctive type of low-grade B-cell lymphoma: a clinicopathologic study of 13 cases. *Am J Surg Pathol*. 1995 ; 19 : 1146-1157.
12. Catovsky D, Matutes E. Splenic lymphoma with circulating villous lymphocytes/splenic marginal-zone lymphoma. *Semin Hematol*. 1999 ; 36 : 148-154.
13. Pangalis GA, Angelopoulou MK, Vassilakopoulos TP, et al. B-chronic lymphocytic leukemia, small lymphocytic lymphoma, and lymphoplasmacytic lymphoma, including Waldenstrom's macroglobulinemia: a clinical, morphologic, and biologic spectrum of similar disorders. *Semin Hematol*. 1999 ; 36 : 104-114.
14. Salamon-Nguyen F, Valensi F, Troussard X, Flandrin G, The value of the monoclonal antibody DBA44 in the diagnosis of B-lymphoid disorders. *Leukemia Research* 1996 ; 20 : 906-13
15. Janckila AJ, Cardwell EM, Yam LT, Lie CY, Hairy cell identification by immunohistochemistry of tartrate-resistant acid phosphatase. *Blood* 1995;85:2839-44
16. VanBockstaele DR, Berneman ZN, Peetermans ME, Flow

- cytometric analysis of hairy cell leukemia using right angle light scatter. *Cytometry* 1986;7:217-20
17. Babusikova O, Tomova, A Hairy cell leukemia: early immunophenotypical detection and quantitative analysis by flow cytometry. *Neoplasma* 2003 ; 50 :350-6
 18. Cornfield DB, Mitchell Nelson DM, Rimsza LM, Moller-Patti D, Braylan RC, The diagnosis of hairy cell leukemia can be established by flow cytometric analysis of peripheral blood, even in patients with low levels of circulating malignant cells. *Am J Hematol.* 2001,67 :223-6.
 19. Hassan IB, Hagberg H, Sundstrom C. Immunophenotype of hairy-cell leukemia. *Eur J Haematol.* 1990 ; 45 : 172-176.
 20. Darrel Jennings, Kenneth A, Recent advances in flow cytometry: application to the diagnosis of hematologic malignancy. *Blood* 1997; 90 : 2863-92
 21. Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, Garcia Marco J, Que TH, Catovsky D. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia* 1994 : 8 : 1640-5
 22. Schwarting R, Stein H, Wang CY, The monoclonal antibodies aS-HCL (aLeu-14) and aS-HCL3 (aLeu-M5) allow the diagnosis of hairy cell leukemia. *Blood* 1985 ; 65 : 974-83
 23. Marotta G, Raspadori D, Sestigiani C and coll, Expression of CD11c antigen in B-cell lymphoproliferative disorders. *Leukemia and Lymphoma* 2000;37:145-9
 24. Chen YH, Tallman MS, Goolsby C, Peterson L, Immunophenotypic variations in hairy cell leukaemia. *Am J Clin Pathol* 2006 ; 125 : 251-9
 25. Mark L. Wu, MD; Hau C. Kwaan, MD, PhD; Charles L. Goolsby, PhD, Atypical Hairy Cell Leukemia. *Arch Pathol Lab Med* 2000 ; 124
 26. Gotic M, Kraguljac N, Rolovic Z, Radosevic N, Boskovic D, Immunophenotyping of leukemic cells in the diagnosis of hairy cell leukemia. *Srp Arh Celok Lek.* 2000 ; 128 : 157-64.
 27. Bengio R, Narbaitz M, Palacios F, Scolnik M, Sarmiento M., Hairy cell leukemia. An alternative method for the detection of minimal residual disease using flow cytometry. *Medicina B Aires.* 2000 ; 60 (Suppl) 2 : 71-6.
 28. Cornfield DB, Mitchell Nelson DM, Rimsza LM, Moller-Patti D, Braylan RC., The diagnosis of hairy cell leukemia can be established by flow cytometric analysis of peripheral blood, even in patients with low levels of circulating malignant cells. *Am J Hematol.* 2001 ; 67 : 223-6.



LA SOCIÉTÉ TUNISIENNE DES SCIENCES MÉDICALES

Organise le

37^{ème} Congrès Médical Maghrébin

8 - 10 Mai 2008 à l'hôtel Karthago Le Palace Gammarth

Thème Principal :

**Exercice de la médecine et réforme de la couverture
médicale au Maghreb**

