

Recommandations

Recommandations pour la prise en charge cytogénétique des lymphomes malins non hodgkiniens de l'adulte établies par le Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH)

GFCF

Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH), Paris, France

Reçu le 15 mars 2004 ; accepté le 8 avril 2004

Disponible sur internet le 05 mai 2004

Participants : Christian Bastard, Evelyne Callet Bauchu, Agnès Daudignon, Dominique Leroux, Hélène Poirel, Pascaline Talmant.

Coordonnateur : Christian Bastard.

1. Bases des recommandations du GFCH

Les lymphomes malins non hodgkiniens (LNH) représentent un groupe hétérogène de lymphoproliférations malignes dont le diagnostic repose essentiellement sur les examens anatomopathologiques et immunohistologiques. Les premières classifications des lymphomes datent des années 1970. La « Working formulation for clinical usage » en 1982 a joué un rôle important dans les premières stratifications des prises en charges thérapeutiques des patients, distinguant des lymphomes de bas grade, de grade intermédiaire ou de haut grade de malignité. Les classifications récentes — « Updated Kiel Classification », « REAL classification », « classification OMS » [1] — représentent des avancées importantes à plusieurs points de vue :

- prise en compte du phénotype immunologique (85 % de LNH B, 15 % de LNH T, existence de phénotypes évocateurs ou spécifiques de certaines entités, par exemples lymphomes du manteau CD5+, CD23-, CD43+, lymphomes anaplasiques T à grandes cellules ALK+);
- prise en compte des données cytogénétiques, essentiellement des translocations primaires récurrentes : t(14;18)(q32;q21), t(8;14)(q24;q32), t(11;14)(q13;q32), t(3;14)(q27;q32), etc. ;
- prise en compte des connaissances concernant la différenciation lymphocytaire physiologique, permettant d'identifier la population cellulaire normale dont dérive la population tumorale.

Ces classifications soulignent l'importance d'un abord multidisciplinaire : le diagnostic résulte de la confrontation des données cliniques, immunologiques, morphologiques et génétiques.

Dans ce contexte, l'analyse cytogénétique, optionnelle, est donc importante, et peut apporter des renseignements concernant :

- la clonalité, parfois seul argument pour distinguer une hyperplasie réactionnelle d'une prolifération maligne ;
- le type probable de lymphome, en raison des corrélations existant entre celui-ci et les translocations primaires récurrentes ;
- le pronostic.

2. Recommandations du GFCH pour la prise en charge au diagnostic

2.1. Choix du matériel à analyser

Tout matériel tumoral peut être utilisé, en premier lieu ganglion, mais aussi localisation extranodale, liquide d'épanchement. L'informativité des prélèvements médullaires ou sanguins est toujours très inférieure, sauf dans certaines formes histologiques (lymphomes du manteau, lymphomes de la zone marginale habituellement associés à un envahissement médullaire) et dans les formes leucémiques.

2.2. Culture

Après dissociation mécanique stérile, la suspension est ajustée à environ deux millions de cellules/ml. Une culture d'une nuit en présence de colchicine est habituellement informative dans plus de 80 % des cas. Toute autre culture jugée souhaitable peut y être ajoutée, par exemple cultures de 72 heures avec stimulation (TPA) qui pourraient être utiles pour certains lymphomes de bas grade — lymphomes lymphoplasmocytaires, lymphomes de la zone marginale — et pour les lymphomes du manteau.

2.3. Conservation du matériel

La conservation des culots cytogénétiques, et de tout matériel résiduel — cellules, ADN, ARN etc, est bien entendu recommandée.

Adresse e-mail : berger@necker.fr (GFCH).

2.4. Résultats

Les résultats de l'analyse cytogénétique doivent être confrontés avec ceux de l'anatomopathologie (+ immunophénotype) et de la cytologie (apposition colorée au MGG).

2.4.1. En cas d'échec ou de résultat non informatif

Le choix des investigations génétiques complémentaires, hybridation *in situ* fluorescente (FISH) ou biologie moléculaire dépendra :

- du matériel disponible : culot cytogénétique, ADN, ARN, matériel fixé uniquement ;
- de l'orientation anatomopathologique — immunohistologique, mais aussi cytologie — immunophénotype.

2.4.2. Recherches pouvant être effectuées en FISH

Recherche des translocations spécifiques dans la mesure du possible sur métaphases, à l'aide de sondes spécifiques si l'on en dispose, d'une combinaison de peintures si les sondes spécifiques n'existent pas, guidée par le diagnostic morphologique :

- t(14;18)(q32;q21) en cas de lymphome folliculaire ou de transformation ;
- t(11;14)(q13;q32) en cas de lymphome du manteau ;
- t(9;14)(p13;q32) en cas de lymphome lymphoplasmocytaire, en sachant que la relation est loin d'être absolue ;
- t(11;18)(q21;q21) en cas de lymphome du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT).

Recherche d'un réarrangement à l'aide d'une sonde spécifique (en utilisant de préférence une sonde double couleur encadrant le locus analysé) si l'on soupçonne un réarrangement impliquant :

- *MYC* (lymphome de Burkitt, lymphomes à grandes cellules avec des traits « Burkitt ») ;
- *ALK* (LNH T ou LNH Nul *ALK*-positif en immunohistologie) ;
- *BCL6* (lymphomes diffus à grandes cellules B, lymphomes folliculaires sans translocation t(14;18)(q32;q21), MALT).

2.4.3. Biologie moléculaire

Certains de ces réarrangements peuvent être abordés par des techniques moléculaires. Il s'agit essentiellement de la translocation t(14;18)(q32;q21), de la translocation t(11;14)(q13;q32), de la translocation t(2;5)(p23;q35) et de la translocation t(11;18)(q21;q21).

Pour les autres réarrangements, la mise en œuvre de techniques d'amplification applicables en routine s'avère difficile. Il est toutefois possible d'amplifier par RT-PCR les produits des gènes de fusion résultant des translocations t(3;14) (transcrits $I\mu$ -*BCL6* ou $I\gamma$ -*BCL6*).

D'autres paramètres peuvent en revanche être évalués à l'aide de techniques de biologie moléculaire :

- clonalité par étude des réarrangements des gènes d'immunoglobulines ou des gènes du récepteur T à l'antigène ;
- hyperexpression de cycline D1 dans les lymphomes du manteau.

3. Principales corrélations

- Les lymphomes folliculaires sont associés dans 80 % des cas à une translocation t(14;18)(q32;q21) joignant le gène *BCL2* à un segment J de gène d'immunoglobuline (JH) et, dans environ 10 % des cas à une translocation t(3;14)(q27;q32) impliquant le gène *BCL-6*, en l'absence de t(14;18). Dans 10 % des cas, le caryotype anormal ne comporte pas ces translocations récurrentes. La présence au diagnostic d'une délétion 6q ou d'une anomalie 17p pourrait avoir une valeur pronostique péjorative. Les translocations variantes, t(2;18)(p12;q21) et t(18;22)(q21;q11) sont rares.
- Les lymphomes du manteau sont porteurs d'une translocation t(11;14)(q13;q32) ayant pour résultat une jonction *BCL1*-JH. L'inclusion des patients dans les protocoles actuels de traitement de ces lymphomes requiert la mise en évidence de cette translocation ou de sa conséquence, l'hyper-expression de la Cycline D1.
- Les lymphomes de Burkitt sont porteurs d'une translocation t(8;14)(q24;q32) (90 % des cas) ou de l'une des translocations variantes, t(2;8)(p12;q24) ou t(8;22)(q24;q11), ces trois translocations impliquant le gène *MYC* en 8q24. Parmi les anomalies additionnelles, la duplication 1q est la plus fréquente. La présence d'un caryotype complexe associé à la translocation t(8;14)(q24;q32) est plutôt évocatrice d'un diagnostic de lymphome diffus à grandes cellules B.
- Trente à 40 % des lymphomes B diffus à grandes cellules sont porteurs d'un réarrangement impliquant le gène *BCL6* en 3q27. Il s'agit le plus souvent d'une translocation t(3;14)(q27;q32), mais *BCL6* compte au moins 20 autres partenaires. Une translocation t(14;18)(q32;q21) est retrouvée dans 15 à 20 % des cas, un remaniement du locus c-*MYC* en 8q24 dans 5 à 10 % des cas.
- Certains lymphomes du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT) sont porteurs d'une translocation t(11;18)(q21;q21), *API2-MALT1*. La fréquence de cette translocation varie selon la localisation : poumon-estomac (20–35 %), œil (15–20%). La t(1;14)(p22;q32), impliquant le gène *BCL10*, est beaucoup plus rare.
- Certains lymphomes des zones marginales sont associés à des réarrangements 7q (délétions 7q dans les formes spléniques), d'autres à une trisomie 3.
- Les lymphomes anaplasiques à grandes cellules de phénotype T ou Nul sont associés à un réarrangement de la région 2p23, le plus souvent translocation t(2;5)(p23;q35), mais le gène *ALK*, en 2p23, compte lui aussi de nombreux partenaires (en 1q21, 1q25, 2q35, 3q21, 17q23,....).
- Les lymphomes lymphoblastiques T, très proches des LAL T, sont porteurs des mêmes anomalies que ces dernières.
- Les exceptionnels lymphomes $\gamma\delta$ hépatospléniques sont associés à la présence d'un iso 7q.

L'analyse cytogénétique peut également aider au diagnostic de quelques formes anatomo-cliniques difficiles : maladie

de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire (Pop-pema), dont la cytogénétique est proche de celle des LNH diffus à grandes cellules et différente de celle des maladies de Hodgkin, lymphomes primitifs du médiastin caractérisés comme certaines maladies de Hodgkin par la présence de multiples isochromosomes 9p...

4. Conclusion

En conclusion, même si elle n'est pas décisionnelle, la cytogénétique conventionnelle représente une source importante d'informations permettant de mieux classer les lymphomes et de mieux comprendre les mécanismes aboutissant à leur développement.

Caryotype conventionnel		Lymphomes T	
Lymphomes B		Lymphomes T	
Caryotype « informatif »	Caryotype non ou peu informatif échec, caryotype normal, anomalie de nombre, anomalie de structure non spécifique	Caryotype « informatif »	Caryotype non ou peu informatif échec, caryotype normal, anomalie de nombre, anomalie de structure non spécifique
Anomalies de structure récurrentes et « spécifiques »		Anomalies de structure Récurrentes et spécifiques	
Lymphomes folliculaires t(14;18)(q32;q21) et variantes*	<u>FISH guidée par la morphologie et le phénotype</u>	Lymphomes anaplasiques T à grandes cellules	<u>FISH guidée par la morphologie et le phénotype</u>
lymphomes du manteau t(11;14)(q13;q32)		t(2;5)(p23;q35) ou translocations 2p23 avec d'autres partenaires	
lymphomes de Burkitt t(8;14)(q24;q32) et variantes ^a	lymphomes folliculaires Recherche t(14;18)(q32;q21) puis t(3;14)(q27;q32)	lymphomes lymphoblastiques T	ALK positif Recherche réarrangement 2p23 (sonde ALK)
lymphomes diffus à grandes cellules t(3;14)(q27;q32) et variantes ^a , translocations 3q27 non Ig	lymphomes du manteau Recherche t(11;14)(q13;q32)	t(10;11)(p12;q14) t(8;14)(q24;q11)	
lymphomes lymphoplasmocytaires t(9;14)(p13;q32)	lymphomes de Burkitt et apparentés Recherche réarrangement 8q24 (sonde MYC)	autres anomalies récurrentes impliquant les gènes du récepteur T	LNH $\gamma\delta$ recherche i(7)(q10)
lymphomes lymphocytiques del(14)(q23q32)	Lymphomes à grandes cellules Recherche réarrangement 3q27 (sonde BCL6), puis : t(14;18)(q32;q21), t(3;14)(q27;q32)	lymphomes T $\gamma\delta$ i(7)(q10)	<u>Biologie Moléculaire</u> Réarrangement TCR Translocations diverses
lymphomes du MALT t(11;18)(q21;q21)	MALT recherche t(11;18)(q21;q21)	<u>Pas d'indication de FISH</u>	
autres anomalies récurrentes corrélées à l'histologie +3, +12, +18, del(7q), i(9p),...	Autres recherche réarrangement IgH		
<u>Pas d'indication de FISH</u>	<u>Biologie Moléculaire</u> Réarrangement IgH Translocations diverses		

^a Variantes : translocations impliquant les gènes de chaînes légères d'immunoglobulines en 2p12 ou 22q11

Références

- [1] Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, editors. World Health Organization Classification of Tumours Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC Press; 2001.