

Recommandations

Recommandations pour la prise en charge cytogénétique d'une leucémie lymphoïde chronique établies par le Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH)

GFCH

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

Reçu le 15 mars 2004 ; accepté le 8 avril 2004

Disponible sur internet le 04 mai 2004

Participants : Virginie Eclache, Dominique Leroux, Florence Nguyen Khac, Isabelle Radford-Weiss, Sylvie Taviaux
Coordonnatrice : Florence Nguyen Khac

1. Introduction

1.1. Situation du sujet

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est une prolifération–accumulation monoclonale de lymphocytes B matures. Il s'agit d'une maladie classiquement indolente sur de nombreuses années, avec cependant une grande variabilité d'évolution. La survenue d'un lymphome B à grandes cellules s'observe chez 5 à 10 % des malades (syndrome de Richter).

1.1.1. Définitions

À côté des LLC typiques de diagnostic simple autant au plan morphologique qu'au plan immunophénotypique, il existe des syndromes lymphoprolifératifs chroniques B inclassables encore appelés « LLC atypiques ».

La différence entre les LLC typiques et atypiques est faite classiquement sur la morphologie et l'immunophénotype. En pratique, elle est essentiellement faite sur l'immunophénotype.

On peut retenir la proposition suivante :

1.1.1.1. LLC typique (sang périphérique). Morphologie des lymphocytes :

- plus de 90 % de petits lymphocytes matures ;
- mélange de petits lymphocytes matures et de prolymphocytes (nombre de prolymphocytes compris entre 10 et 55 %) (LLC mixte) ;
- spectre allant de petits lymphocytes à de grands lymphocytes (LLC mixte).

Immunophénotype : le score de Matutes est supérieur ou égal à 4.

[CD5+ (1 point), CD23+ (1 point), CD79b – ou + faible (1 point), Intensité des IgS faible (1 point), FMC7 – ou + faible (1 point)]

Certains s'aident aussi de l'intensité du CD20 (+faible). (Le CD22 a été remplacé par le CD79b).

1.1.1.2. Syndrome lymphoprolifératif chronique B atypique (« LLC atypique »). La morphologie des lymphocytes peut ne pas être discriminante par rapport à une LLC typique.

Immunophénotype : le score de Matutes est inférieur ou égal à 3.

NB : on parle de leucémie prolymphocytaire B quand il y a plus de 55 % de prolymphocytes. Comme aucune anomalie chromosomique spécifique n'a encore été décrite, il est recommandé de la prendre en charge sur le plan cytogénétique comme une « LLC atypique ».

1.1.1.3. Diagnostics différentiels. Autres syndromes lymphoprolifératifs chroniques B :

Leucémie à tricholeucocytes

Phase leucémique des lymphomes folliculaires, lymphomes du manteau, lymphomes lymphoplasmocytaires (lymphomes spléniques à lymphocytes villeux, lymphomes de la zone marginale).

(Les syndromes lymphoprolifératifs matures T sont à traiter dans un autre chapitre).

1.1.2. Critères pronostiques

Deux classifications anatomo-cliniques sont couramment utilisées (Binet et Rai), la classification Binet étant la plus utilisée en Europe (Stades A, B, C) [Stade A : Hb > 10g/dl,

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

plaquettes > 100 G/l, moins de trois aires ganglionnaires palpables. Stade B : Hb > 10 g/dl, plaquettes > 100 G/l, plus de trois aires ganglionnaires palpables. Stade C : Hb < 10 g/dl et/ou plaquettes < 100 G/l].

Les patients stades B et C sont traités. Un protocole européen impliquant un nombre limité de centres est actuellement en cours d'étude pour traiter les patients stade A en fonction de facteurs pronostiques biologiques (absence d'hypermutation somatique des gènes des chaînes lourdes des Immunoglobulines, temps de doublement rapide des lymphocytes, anomalie 17p, anomalie 11q).

1.2. Bases des recommandations du GFCH

Des mitoses avec anomalies clonales sont obtenues dans 40 à 50 % des cas étudiés. On détecte des anomalies récurrentes par FISH dans environ 80 % des cas.

Les anomalies récurrentes les plus fréquemment observées dans la LLC (tous stades confondus) et le pronostic qui leur est à ce jour associé sont rapportés dans le [Tableau 1](#).

La plupart de ces anomalies peuvent être présentes au diagnostic, mais peuvent aussi apparaître au cours de la maladie, ce qui suggère leur caractère secondaire.

L'étude cytogénétique dans la LLC est à ce jour optionnelle, puisque n'étant pas encore décisionnelle dans le choix thérapeutique. Cette étude est cependant recommandée, les renseignements apportés par cet examen étant comme nous l'avons vu importants pour le pronostic. Il est devenu évident qu'un patient porteur de LLC stade A, avec une anomalie chromosomique de mauvais pronostic, sera suivi de façon plus rapprochée, même s'il n'est pas traité.

Dans un avenir proche, cette étude cytogénétique sera vraisemblablement indispensable pour la prise en charge des LLC stade A, la présence d'une délétion du locus TP53 ou du locus ATM, ou d'une trisomie 12 pouvant être décisionnelle pour la mise en route d'un traitement. Les stades B et C sont en eux-mêmes une indication au traitement, mais les études en cours dans les protocoles clinicobiologiques apporteront des précisions sur la stratégie à adopter en fonction des autres critères pronostiques en particulier cytogénétiques, qui pourront alors là aussi devenir indispensables à rechercher.

Dans le cas des syndromes lymphoprolifératifs chroniques B atypiques, l'étude cytogénétique est indispensable, apportant des informations supplémentaires pour le diagnostic, et permettant une décision thérapeutique si la découverte

d'une anomalie chromosomique oriente vers une pathologie connue. Il reste à discuter les indications en fonction de l'âge du patient, si celui-ci est un facteur limitant pour la mise en route d'un traitement.

2. Principes techniques

Le caryotype est réalisé sur du sang périphérique. (Il est possible de le faire à partir d'un prélèvement de moelle).

2.1. Culture

Le temps de culture est de 72 heures ou 96 heures avec mitogènes B : TPA ou LPS ou PKW ou TPA+IL2. Certains utilisent aussi de la PHA en association avec un mitogène B.

Ces temps de culture conviennent aussi en cas de lymphomes leucémisés.

En cas de suspicion de syndrome de Richter, le caryotype sera réalisé au mieux sur un ganglion, et on se reportera alors aux recommandations du groupe lymphome.

2.2. Caryotype standard

Le nombre minimum de mitoses à analyser est de 20, si une (des) anomalie(s) clonale(s) a (ont) été observée(s). Il est sinon recommandé de compter 40 mitoses. En effet, la majorité des mitoses peut être issue de cellules normales ; il peut aussi exister des clones minoritaires.

2.3. Hybridation *in situ* fluorescente (FISH)

Comme d'une part il peut être difficile d'obtenir des mitoses anormales dans la LLC (non division des cellules ou clones minoritaires), et comme d'autre part il existe des anomalies cryptiques récurrentes, on aura recours à la FISH dans de nombreux cas.

En l'absence d'anomalie visible au caryotype, la FISH sera lue sur les métaphases (anomalie cryptique) et sur les noyaux interphasiques. En cas d'anomalie observée dans un faible pourcentage de noyaux, il est recommandé de compter au minimum 200 noyaux. Le seuil de positivité est à valider dans chaque laboratoire.

On pourra être amené à explorer de façon systématique les régions suivantes :

- 11q22 : locus du gène ATM ;
- 12 : sonde alphasoidale (« centromère ») du 12 (CEP12) ;
- 13q14 : D13S319, 7-D13S272 ;
- 17p13 : locus du gène TP53.

3. Indications de la FISH

À ce jour, les indications de la FISH sont optionnelles.

Si une FISH est réalisée, les indications peuvent être les suivantes ([Tableau 2](#)) :

3.1. Caryotype anormal

3.1.1. En cas d'anomalie(s) clonale(s) orientant vers une LLC : trisomie 12, *del(13)(q14)*, *del(11)(q22)*, *add/del(17)(p13)*

- Outre les sondes jugées utiles pour préciser des anomalies chromosomiques complexes observées.

Tableau 1

Les anomalies récurrentes observées dans la LLC (tous stades confondus) et le pronostic qui leur est à ce jour associé

| | Caryotype standard (%) | FISH (%) | Pronostic |
|--|------------------------|----------|-------------------------|
| <i>del(13)(q14)</i> <i>/t(13;v)(q14;v')</i> | 9,5 | 55 | Bon, si délétion isolée |
| <i>del(11)(q22)</i> (ATM) | 1 | 18 | Mauvais |
| trisomie 12 totale <i>/partielle (12q13-21)</i> | 17 | 16 | Discuté |
| <i>del(6)(q21-23)</i> | 5,5 | 6 | ? |
| <i>del(17)(p13)</i> (TP53) | 3,4 | 7 | Le plus défavorable |

Tableau 2

Recommandations pour la prise en charge FISH dans les LLC établies par le groupe français de cytogénétique hématologique (GFCH)

| Caryotype | Anomalie(s) orientant vers une LLC +12, del(13q), add/del(17p), del(11q) | Anomalie(s) « non classique(s) » | Anomalie(s) orientant vers un diagnostic de lymphome leucémisé t(11;14)(q13;q32) t(14;18)(q32;q21) del(7q)/translocation7q | Absence d'anomalie |
|-----------|---|--|---|--|
| FISH | 17p13(TP53) 11q22(ATM) 13q14 ^a | LLC typique 17p13(TP53) 11q22(ATM) 13q14 ^a | « LLC atypique » 17p13(TP53) 11q22(ATM) 13q14 | Voir groupe lymphome LLC typique 17p13(TP53) 11q22(ATM) 13q14 ^a CEP12 ^a |

Sondes : 11q22 : locus du gène ATM, 12 : « centromère » (CEP12), 13q14 : D13S319, D13S272, 17p13 : locus du gène TP53

Échec de culture : demander si possible un nouveau prélèvement

^a optionnelle (mais recommandée)

- On recherchera de façon systématique par FISH les autres anomalies récurrentes non vues au caryotype, pouvant être cryptiques, et ayant une valeur pronostique, en particulier les délétions des loci TP53 (17p13) et ATM (11q22). La recherche de la délétion 13q14 est optionnelle mais recommandée.

3.1.2. En cas d'anomalie(s) clonale(s) « non classique(s) »

- Outre les sondes jugées utiles pour préciser des anomalies chromosomiques complexes observées.
- Si c'est une LLC typique sur les plans morphologique et immunophénotypique, on recherchera de façon systématique les anomalies ayant une valeur pronostique et pouvant être cryptiques, avec les sondes TP53 (17p13) et ATM (11q22). La sonde 13q14 est optionnelle mais recommandée.
- Si c'est une « LLC atypique », en plus des deux sondes TP53 (17p13) et ATM (11q22), la recherche de la délétion 13q14 peut avoir dans ce cas un intérêt diagnostique.

(Vraisemblablement s'il existe une trisomie 12, elle fera partie des anomalies clonales, et il n'y a donc pas besoin de rechercher cette anomalie de façon systématique par FISH).

3.1.3. En cas d'anomalie(s) clonale(s) orientant vers un diagnostic de lymphome leucémisé

t(11;14)(q13;q32)
t(14;18)(q32;q21)
del7q, translocation7q

Il faut revoir le diagnostic avec la morphologie et l'immunophénotype. Puis on se reportera aux recommandations du groupe lymphome.

3.2. Caryotype normal

- Si c'est une LLC typique, on utilisera les quatre sondes TP53 (17p13), ATM (11q22), 13q14 et CEP12 permettant de rechercher les anomalies récurrentes les plus fréquentes. Les sondes 13q14 et CEP12 sont optionnel-

les (mais recommandées), puisqu'elles n'ont pas à ce jour d'intérêt pronostique.

- Si c'est une « LLC atypique », on utilisera les quatre sondes TP53 (17p13), ATM (11q22), 13q14, et CEP12. Les sondes 13q14 et CEP12 ont dans ce cas un intérêt diagnostique.

3.3. Échec de culture

Si c'est possible, il est recommandé de demander un autre prélèvement, une prise de sang n'étant pas un examen très invasif. Il existe cependant la possibilité de faire la FISH sur noyaux interphasiques.

Pour en savoir plus

- [1] Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, Garcia Marco J, Houlihan A, Que TH, et al. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia* 1994 Oct;8(10):1640–5.
- [2] Juliusson G, Oscier DG, Fitchett M, Ross FM, Stockdill G, Mackie MJ, et al. Prognostic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalities. *N Engl J Med* 1990 Sep 13;323(11):720–4.
- [3] Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Krober A, Bullinger L, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000 Dec 28;343(26):1910–6.
- [4] Stilgenbauer S, Bullinger L, Lichter P, Dohner H. Genetics of chronic lymphocytic leukemia: genomic aberrations and V(H) gene mutation status in pathogenesis and clinical course. *Leukemia* 2002 Jun;16(6):993–1007 Review.
- [5] Lin K, Sherrington PD, Dennis M, Matrai Z, Cawley JC, Pettitt AR. Relationship between p53 dysfunction, CD38 expression, and IgV(H) mutation in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002 Aug 15;100(4):1404–9.
- [6] Oscier DG, Gardiner AC, Mould SJ, Glide S, Davis ZA, Ibbotson RE, et al. Multivariate analysis of prognostic factors in CLL: clinical stage, IGVH gene mutational status, and loss or mutation of the p53 gene are independent prognostic factors. *Blood* 2002 Aug 15;100(4):1177–84.
- [7] Krober A, Seiler T, Benner A, Bullinger L, Bruckle E, Lichter P, et al. V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002 Aug 15;100(4):1410–6.