

Apport du caryotype dans les formes frontières maladie de Waldenström/lymphome de la zone marginale splénique (MW/LZMS)

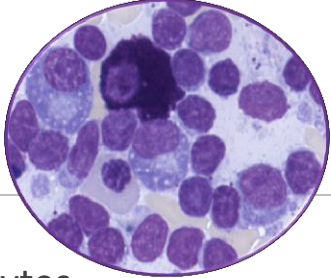
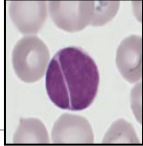
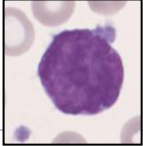
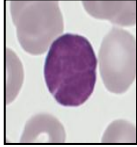
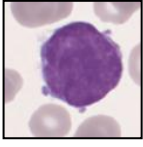
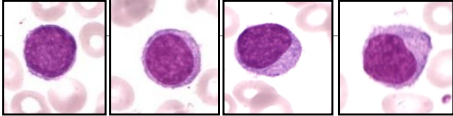
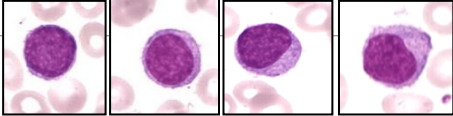
- There are no disease-specific chromosome abnormalities associated with Hairy cell leukaemia or Waldenstrom macroglobulinaemia/lymphoplasmocytic lymphoma and therefore chromosome banding analysis is not required.
- Mutation screening should be undertaken for these entities

Maladie de Waldenström :

Lymphome lymphoplasmocytaire avec envahissement de la moelle osseuse et pic IgM

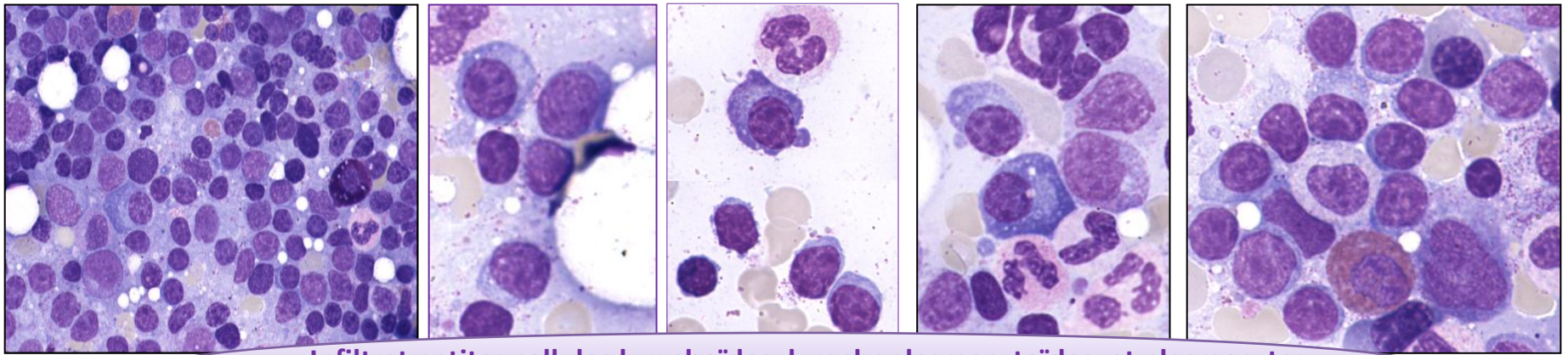
Petits lymphocytes B, lymphoplasmocytes, plasmocytes

MYD88 >90% cas

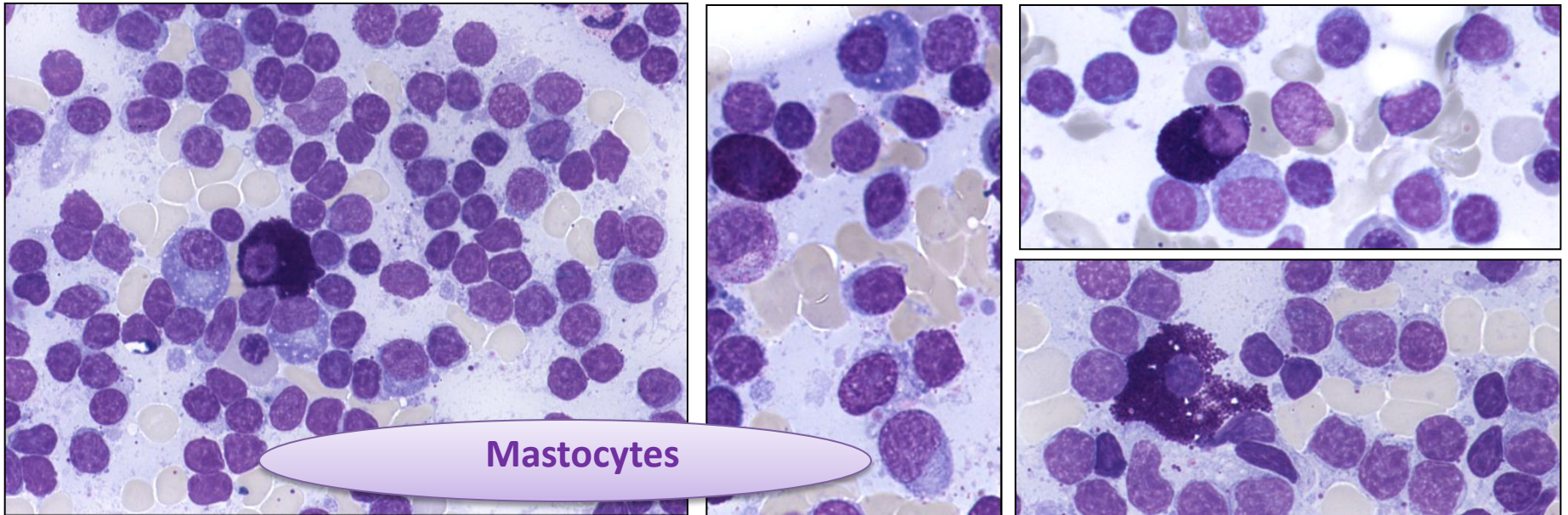
	LPL/MW	LZMS	LF	LCM
Moelle	Infiltration 100%	Infiltration 85%		
	interstitielle nodulaire diffuse 	sinusoïdale nodulaire et/ou interstitielle <i>paratrabéculaire et/ou intertrabéculaire</i>	nodulaire 	nodulaire 
	Lymphocytes Lymphoplasmocytes Plasmocytes (10-15%)	Lymphocytes « Lymphoplasmocytes » +/- Plasmocytes (<10%) <i>(Différentiation plasmocytaire ~21%)</i>		
	Mastocytes +++	-/+ 	-/+	-/+
Sang	10%	85% 	<10%	50-75%

2 entités distinctes (OMS2016)





Infiltrat petites cellules lymphoïdes, lymphoplasmocytoïdes, et plasmocytes



Mastocytes



Dissémination sanguine

Lymphome des cellules de la zone marginale splénique LZMS

Distinctive Clinical and Histological Features of Waldenström's Macroglobulinemia and Splenic Marginal Zone Lymphoma

Luca Arcaini,¹ Marzia Varettoni,¹ Emanuela Boveri,¹ Ester Orlandi,¹
Sara Rattoni,¹ Silvia Zibellini,¹ Michele Merli,¹ Marco Lucioni,¹ Silvia Rizzi,¹
Manuel Gotti,¹ Lucia Morello,¹ Cristiana Pascutto,¹ Marco Paulli²

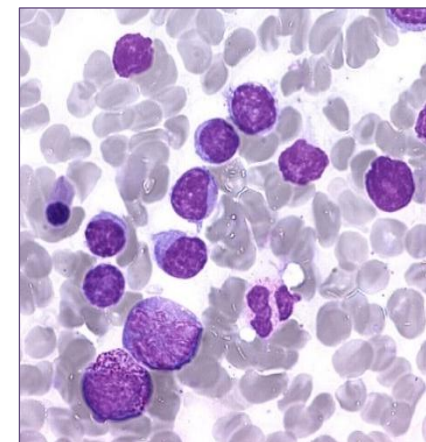
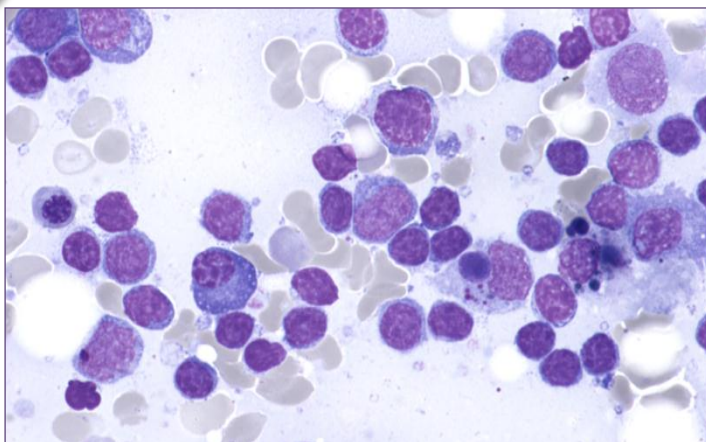
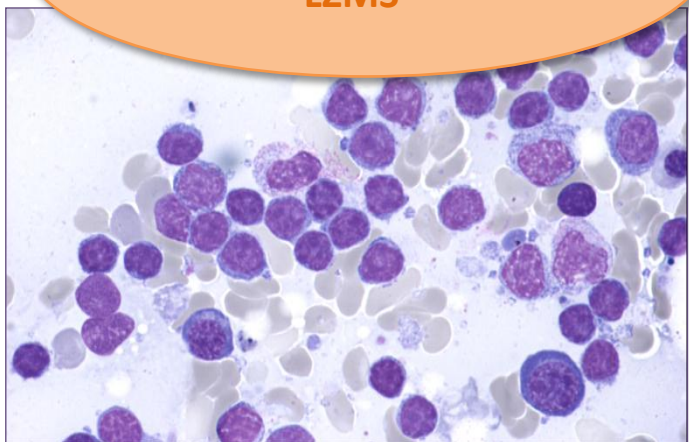
Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia, Vol. 11, No. 1, 103-105, 2011;

Splenic marginal zone lymphoma

Miguel A. Piris ^{a,*}, Arantza Onaindia ^a, Manuela Mollejo ^b

^a Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander, Spain
^b Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Virgen de la Salud, Toledo, Spain

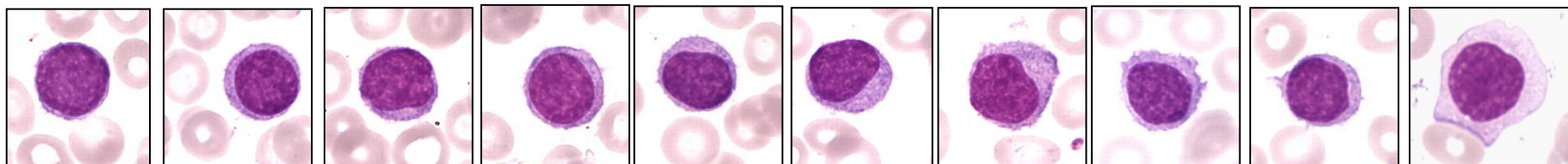
Best Practice & Research Clinical Haematology 30 (2017) 56–64



Infiltration médullaire (80-85%) : intrasinusoïdal, nodulaire et/ou interstitielles, *para- et inter-trabéculaire*,

Différentiation plasmocytaire (21%) dont 61% avec composant monoclonal (83% IgM, 17% IgG)(GHS n=103)

Dissémination sanguin fréquente (85%)



IELSG-36
BRISMA
Bendamustine and Rituximab for the treatment of
Splenic Marginal Zone Lymphoma.
The IELSG-36 phase II prospective study
EudraCT Number 2011-000880-28



LZMS = Diagnostic difficile en l'absence de preuve histologique

Approche immunophénotypique chez patient avec IgM monoclonale

Recherche population lymphocytaire B monotypique (sang ou moelle)
→ calcul du score de Matutes

Marqueurs
Intensité des Ig de surface
CD5
CD23
FMC7
CD22 ou CD79b

Score < 3

Orientation vers MW/LZM

- Phénotype $CD22^{+faible}CD25^{+}$:
“hallmark” de MW
CD22⁺ faible (81% des cas)
Paiva B et al, Blood, 2015
- Phénotype **CD13⁺**
Raimbault et al, BJH, 2018
- Expression hétérogène : **CD27** (51%), **CD38** (50%), **CD200** (62%), **FMC7** (70%)
- Composant plasmocytaire monoclonal $CD38^{+}CD138^{+}$, même restriction isotypique, $CD19^{+}$, $CD45^{+}$, $CD56^{-}$, souvent $CD20^{+}$

Score = 3

Evaluation européenne multicentrique (ERIC and ESCCA)

Rawström et al, Cytometry Part B, 2018

Panel Dg “requis” : $CD19$, K , L , $CD5$, $CD20$, $CD23$

Panel Dg “recommandé” :

$CD43$, $CD79b$, $CD81$, **CD200**, $CD10$ & **ROR-1**

Score = 4 ou 5

LLC/LNH lymphocytaire/MBL

ROR-1⁻
 $CD200^{+dim}$

LLC atypique
ROR-1⁺
 $CD200^{+high}$

Owen RG et al, Hematological oncology, 2000

San Miguel JF et al, Semin Oncol, 2003

Paiva B et al, Leukemia, 2014

M Le Garff-Tavernier, Congrès GFHC, mai 2019

La grande difficulté : distinction phénotypique MW et LZM

- Approche Euroflow : 17 marqueurs en 4 tubes 8 couleurs
Analyse composante principale (PCA)
Infinicyt®

CD38/CD45/**slgM**/**CD27**/**CD79b**/CD19/cyIgκ/cyIgλ
CD38/CD45/**CD20**/**CD25**/**CD22**/CD19/cyIgκ/cyIgλ
CD38/CD45/**CD103**/**CD305**/**CD11c**/CD19/cyIgκ/cyIgλ
CD38/CD45/**CD10**/**CD200**/**CD5**/CD19/cyIgκ/cyIgλ

→ But : signature phénotypique “iPEP” (immunophenotypic Protein Expression Profile)

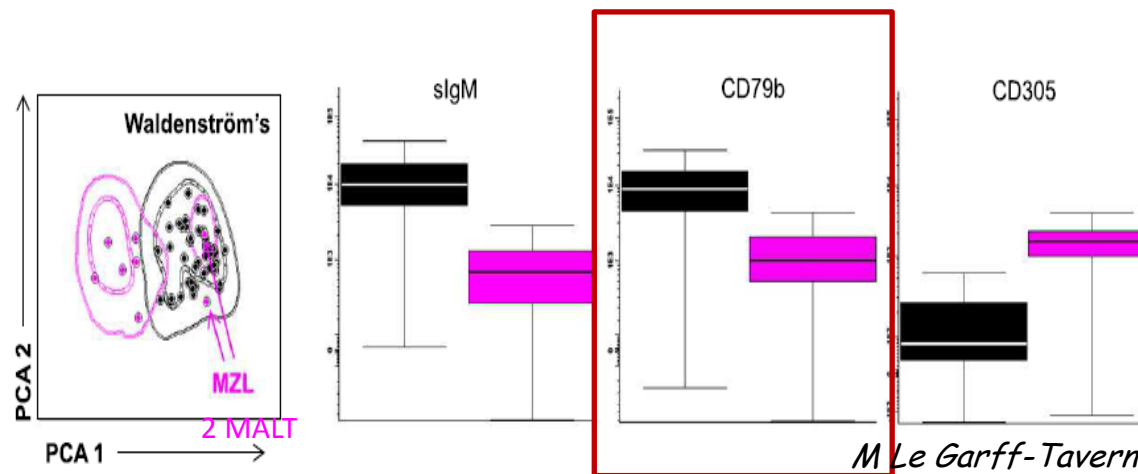
→ Distinction MW et autres SLP-B

difficultés persistantes pour la distinction avec les lymphomes lymphoplasmocytaires et les LZM !

Paiva B et al, Leukemia, 2014

- Marqueurs les plus discriminants pour distinction des cellules de MW des LZM :

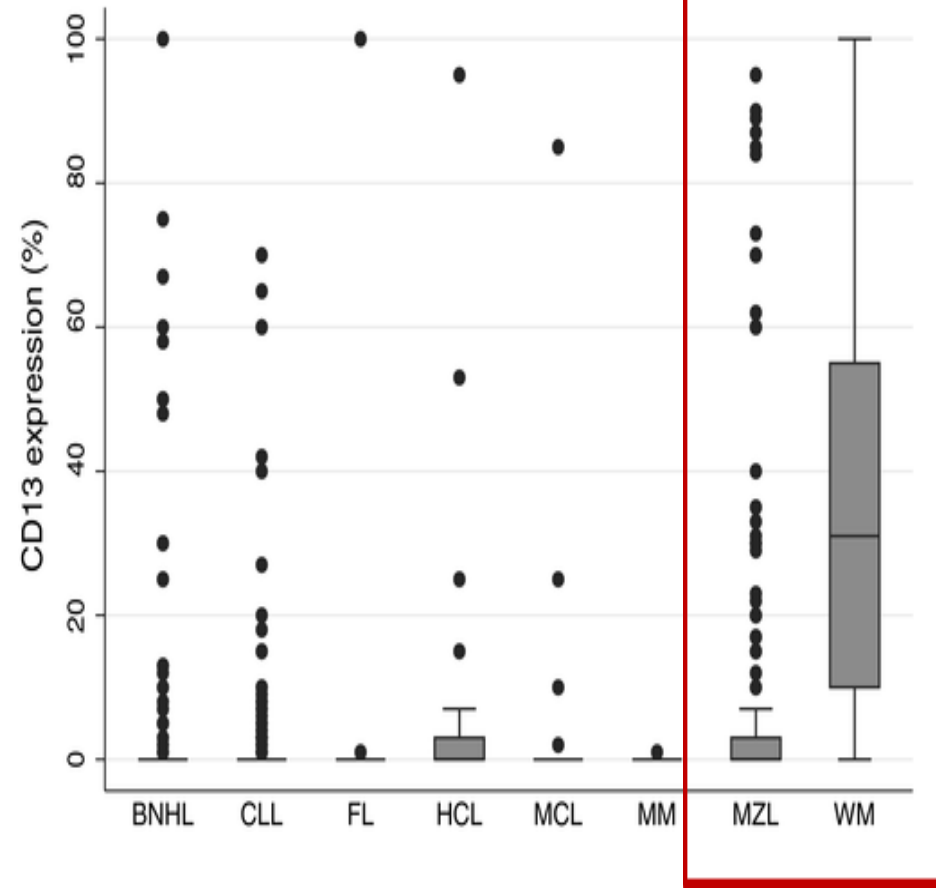
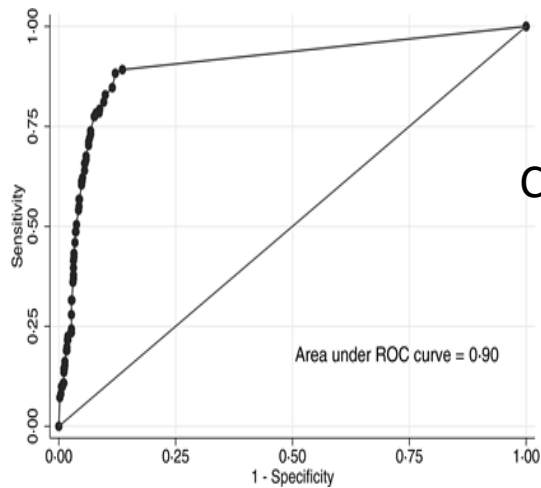
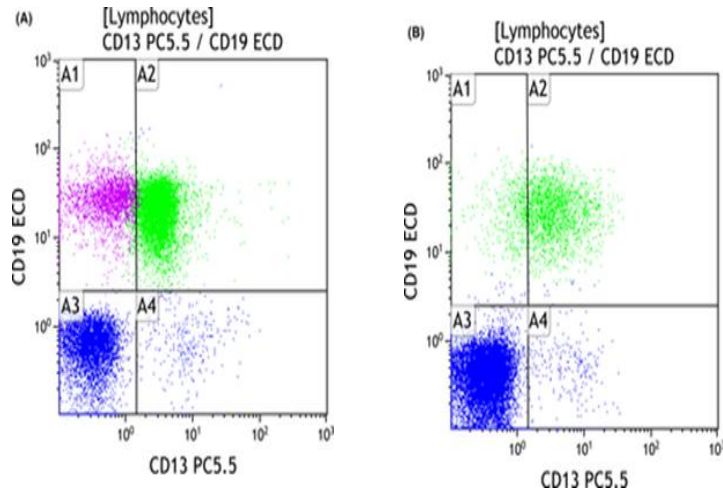
slgM, **CD79b** (surexprimés IgM MGUS/MW), **CD305** (négatif dans MW et up-régulé dans LZM)



Paiva B et al, Blood, 2015

M Le Garff-Tavernier, Congrès GFHC, mai 2019

Nouveauté 2018 : apport du CD13



Lymphome lymphoplasmocytaire

Architecture

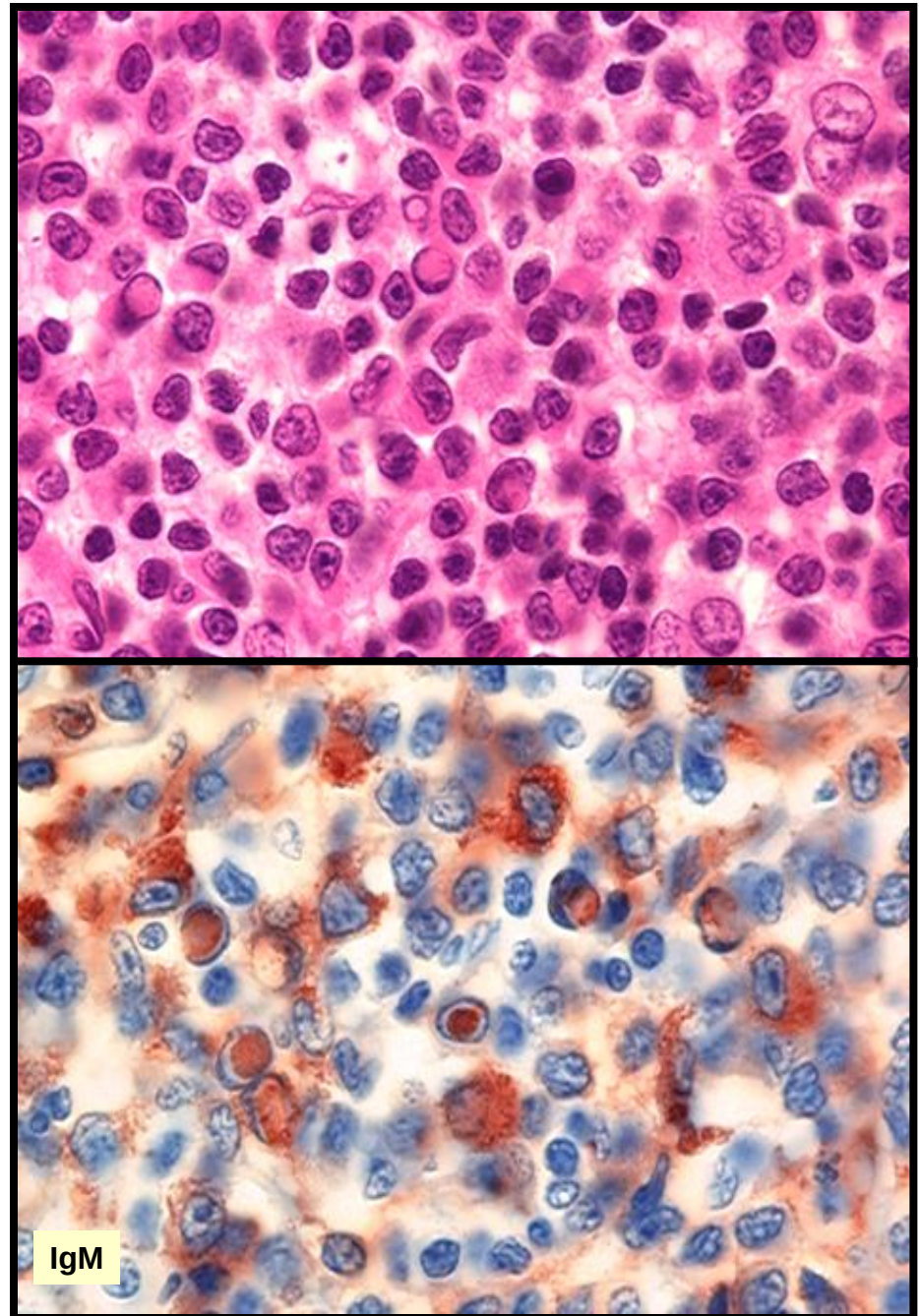
- diffuse, en plages, plus rarement interstitiel ou nodulaire
- absence de centres de prolifération

Cellules

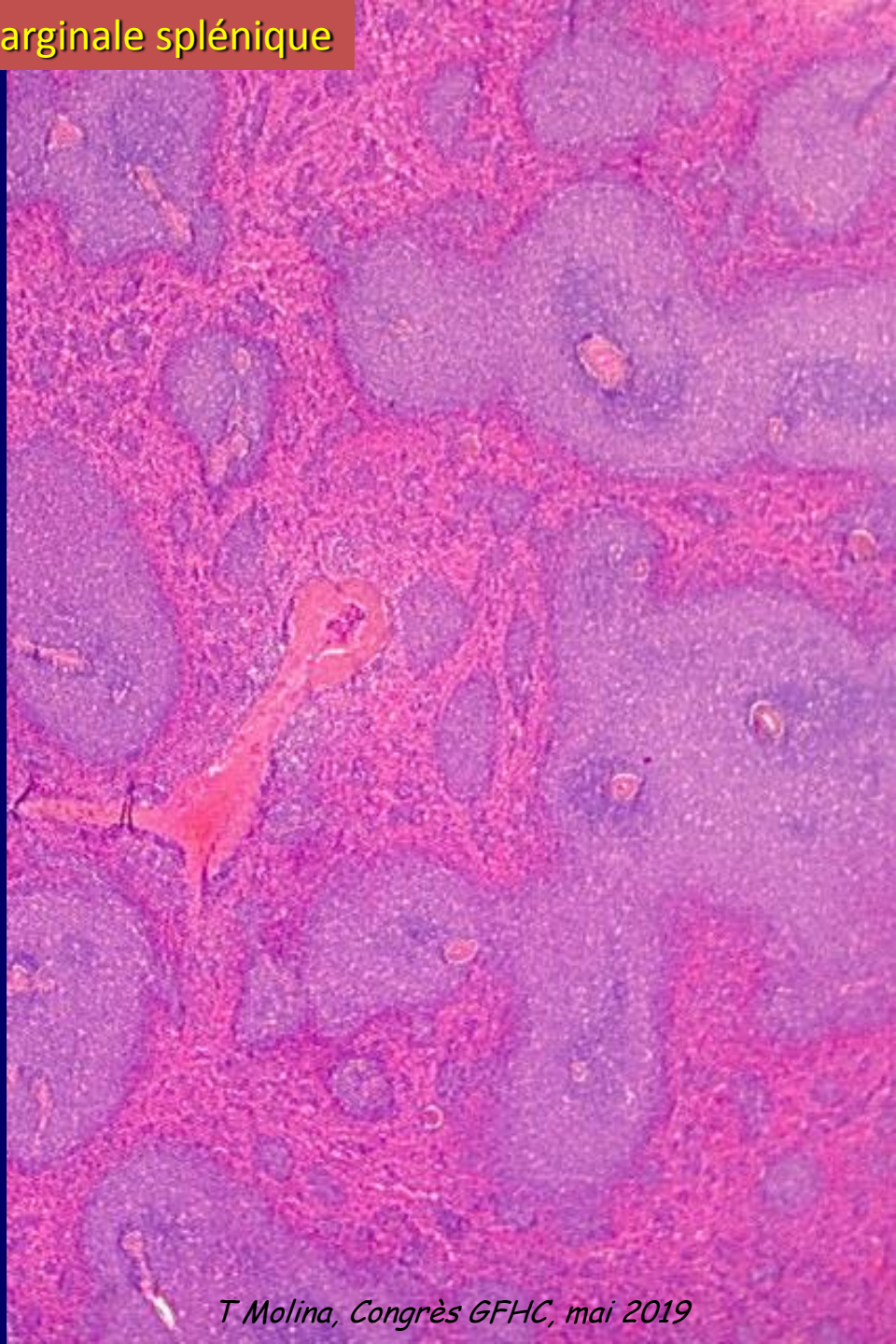
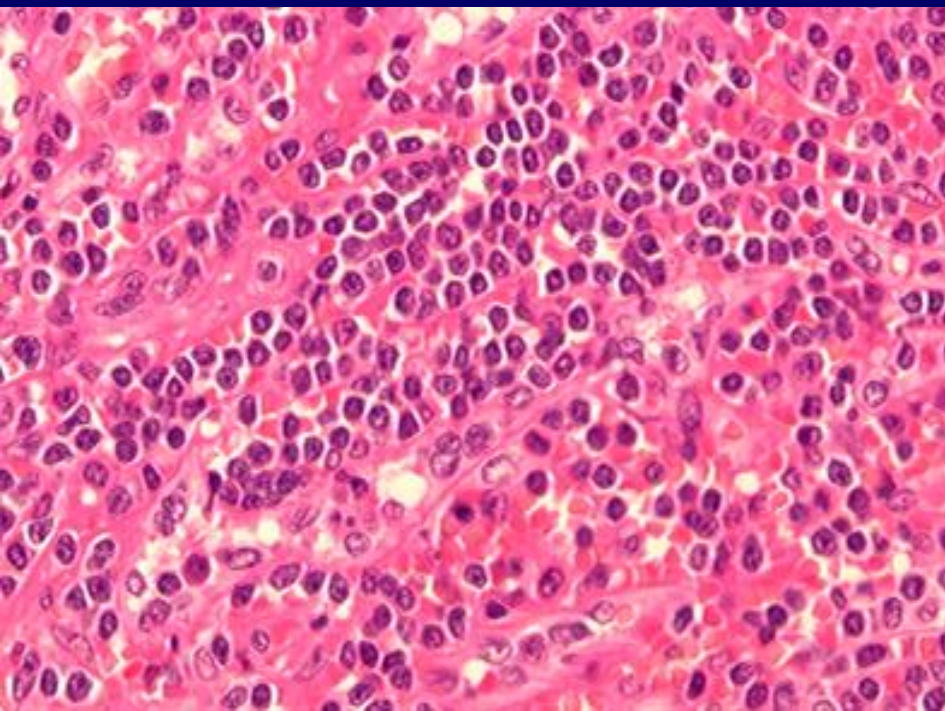
- petits lymphocytes
- lymphocytes plasmocytoïdes (Dutcher bodies)
- plasmocytes

Lésions associées

- hyperplasie mastocytaire
- histiocytes épithélioïdes
- Myélofibrose systématisée (moelle)



LM de la zone marginale splénique



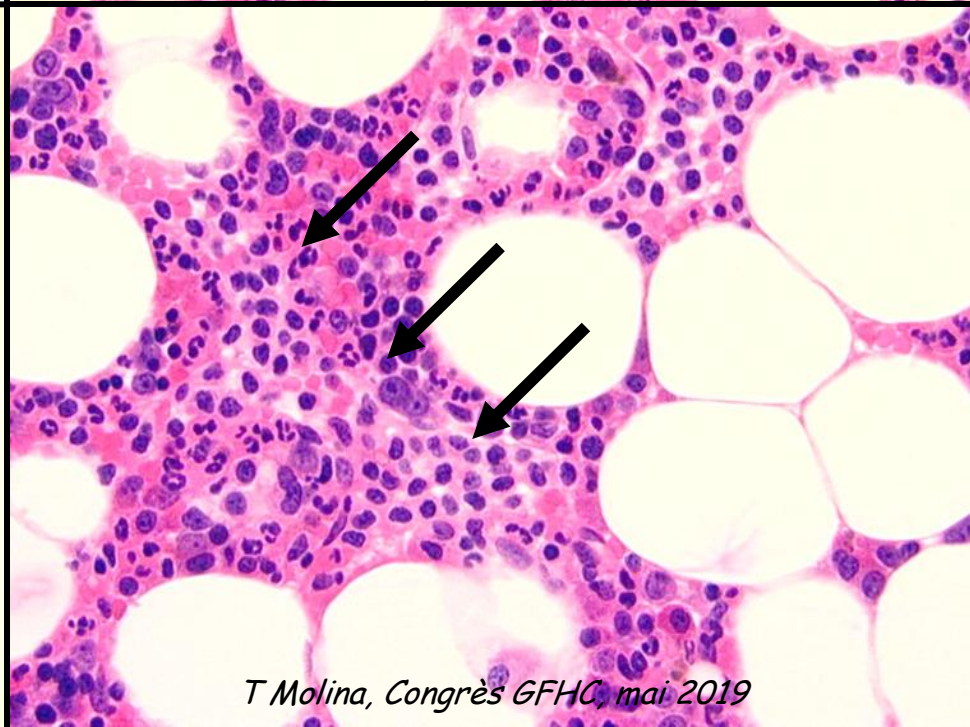
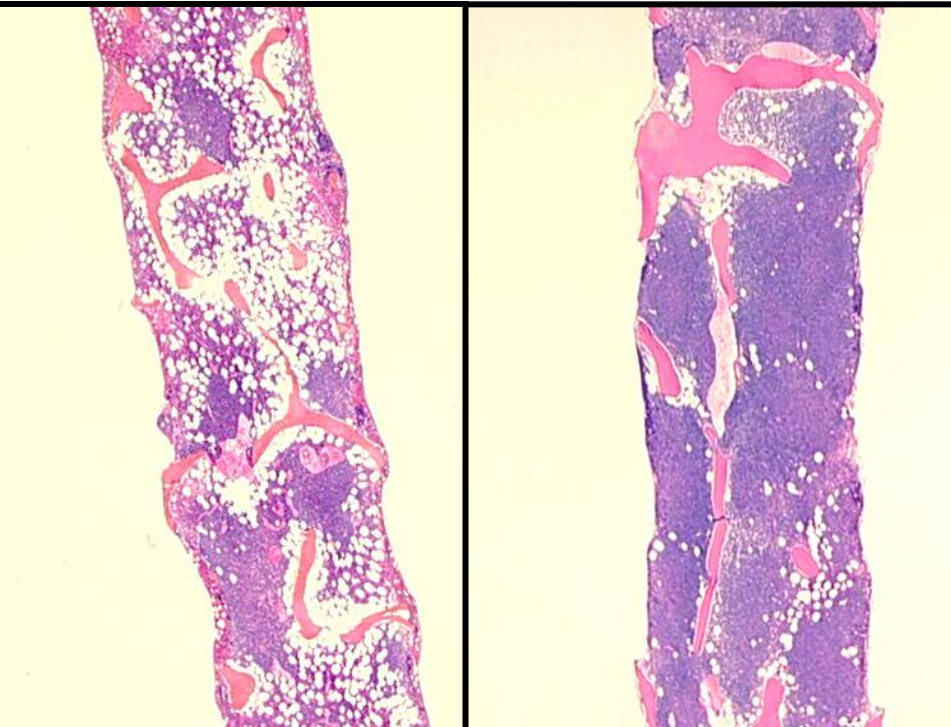
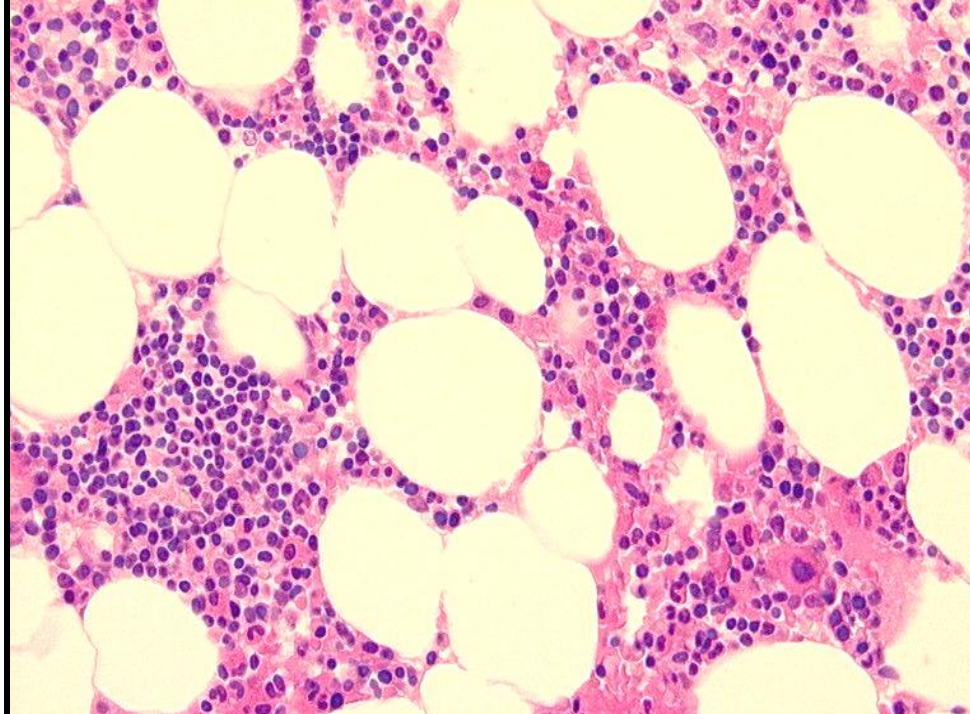
Lymphome à petites cellules B

Diagnostic sur BOM

Leur classification est difficile dans la moelle osseuse : pas de critère absolu

Infiltration de la moelle osseuse

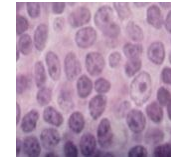
- interstitielle
- nodulaire : paratrabéculaire
centromédullaire
- massive
- Intravasculaire



« Epidémiologie » des mutations *MYD88L265P*

MGUS IgM : 50%

Lymphome lymphoplasmocytaire
non IgM : 50%



20 à 30% DLBC ABC
Formes extranodales

Amylose IgM : 75%

MW > 90%

Rare

Absente

< 10% MZL (IgM)

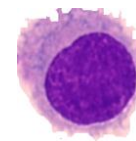


< 5% LNH



< 5% LLC

Absent LLC IgM



LNH manteau

Myélome à IgM

Myélome

IgG /IgA MGUS

Cryoglobuline

Amylose non Ig M

Leucémie à tricholeucocytes

MYD88 L265P : Un marqueur diagnostic

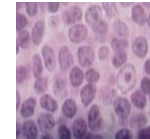
Mais l'absence de ce variant n'exclut pas (encore) le diagnostic de MW

	MW (n)	Technique	MYD88 L265P	Profils MYD88 <i>wild</i>
 Treon <i>et al</i> NEJM, 2012	54	Sanger Whole genome	90%	MLL2 muté (n=2)
 Treon <i>et al</i> NEJM, 2015	2	Sanger		Autres mutations de MYD88: M232T, S243N, ...
 Baer <i>et al</i> Leukemia 2016	78	NGS	86%	Autres mutations de MYD88
 Xu <i>et al</i> Blood, 2013	104	AS PCR	93%	↓ BM, IgM, hypogammaglobulinémie
 Gimenez <i>et al</i> , Leukemia, 2013	117	Q PCR	86%	↓IgM, ↑Lymphocytose, LDH, CD27+CD23+ FMC7++ Vh UM , ↓Vh3-23
 Poulain <i>et al</i> , Blood, 2013	67	Sanger	79%	Femme, Splénomégalie CD27+, +3
 Hunter <i>et al</i> Blood Adv 2018	280	WES (n= 69)	64%	Autres mutations de la voie NFkB (<i>TBL1XR1</i> ,...) Risque de transformation en DLBCL
 Treon <i>et al</i> BJH 2018	308	AS PCR	MYD88WT n=46	Pronostic péjoratif Risque de transformation en DLBCL <i>S Poulain, Congrès GFHC, mai 2019</i>

« Epidémiologie » des mutations *CXCR4*

MGUS IgM :
20% *CXCR4*S338X

Lymphome
Lymphoplasmocytaire non IgM
25%



<5%
DLBC ABC/GC

Absente dans les LCP

MW 30-40%

Rare

Absente

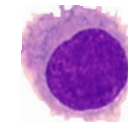
< 10% MZL (IgM)



< 5% LNH
Folliculaire



<5% LLC



Myélome à IgM
Myélome
IgG /IgA MGUS
Cryoglobuline
Amylose non Ig M
LNH manteau
Leucémie à tricholeucocytes

MW: Une frontière moléculaire ?

	MW	MGUS IgM	LZMS	LF t(14;18)	LCM t(11;14)
MYD88 L265P	90 à 95%	40 à 50%	<5%	rare	absente
Autres mutations MYD88	rare	rare	<5%	absente	absente
CXCR4 WHIM like	30 à 40 %	25%	<5%	rare	absente
CD79A / CD79B	<10%	<5%	<5%	<5%	rare
TNFAIP3	<5%	<5%	<5 à 10%	<5%	<5%
KLF2	<5%	ND	30 à 50%	rare	rare
Notch2. Notch1	rare	rare	15 à 20%	rare	<10%
MLL2/ KMT2D	rare (MYD Neg)	Rare	5 à 15%	90%	rare
Epigénétique (CREEBP, EZH2,...)	rare	rare	rare	30%	rare
TP53 Un facteur pronostique « universel »	10%	rare	10 à 15%	10 à 15%	20%

Aucune anomalie chromosomique spécifique

Maladie de Waldenström

Anomalies les plus fréquentes :

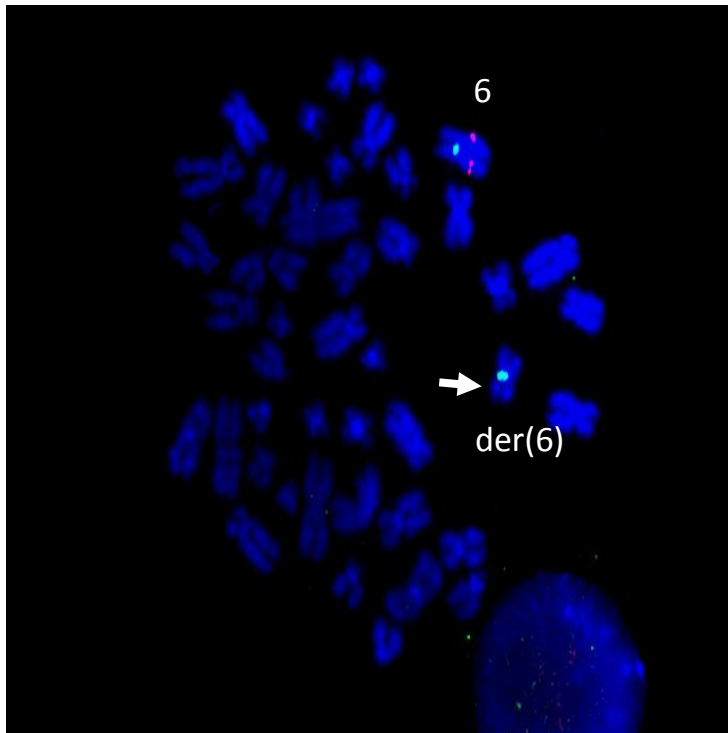
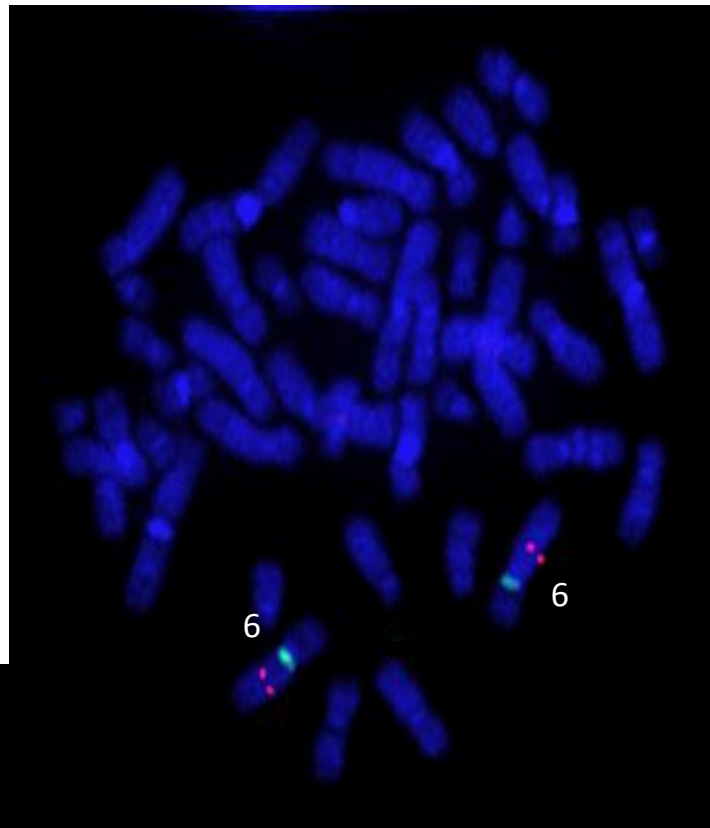
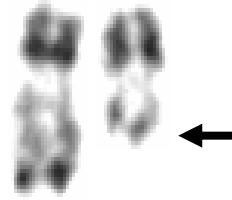
Délétion 6q : 31-54%

Trisomie 4 / 4q : 8-20%

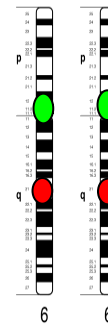
Délétion 13q : 9-13%

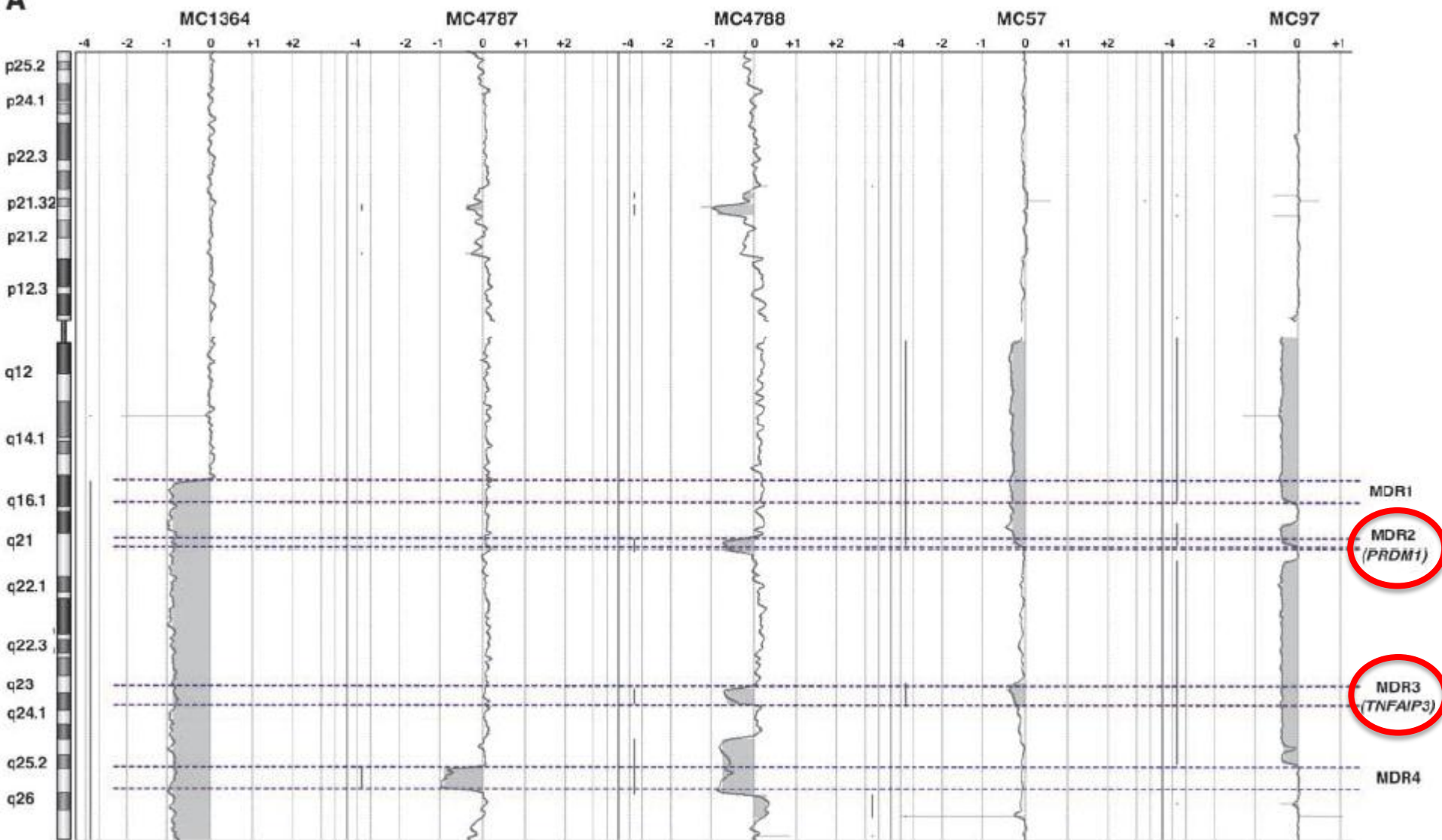
Trisomie 18 / 18q : 5-15%

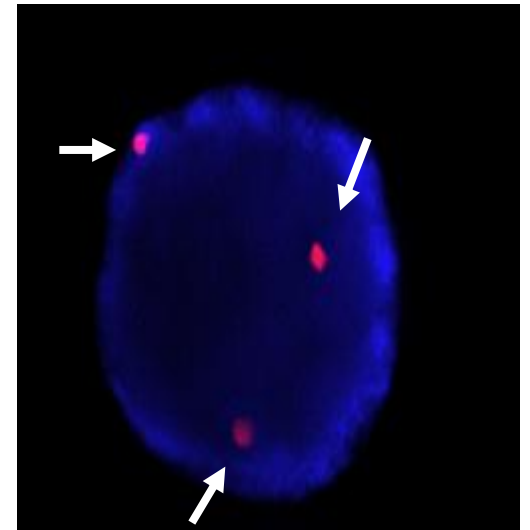
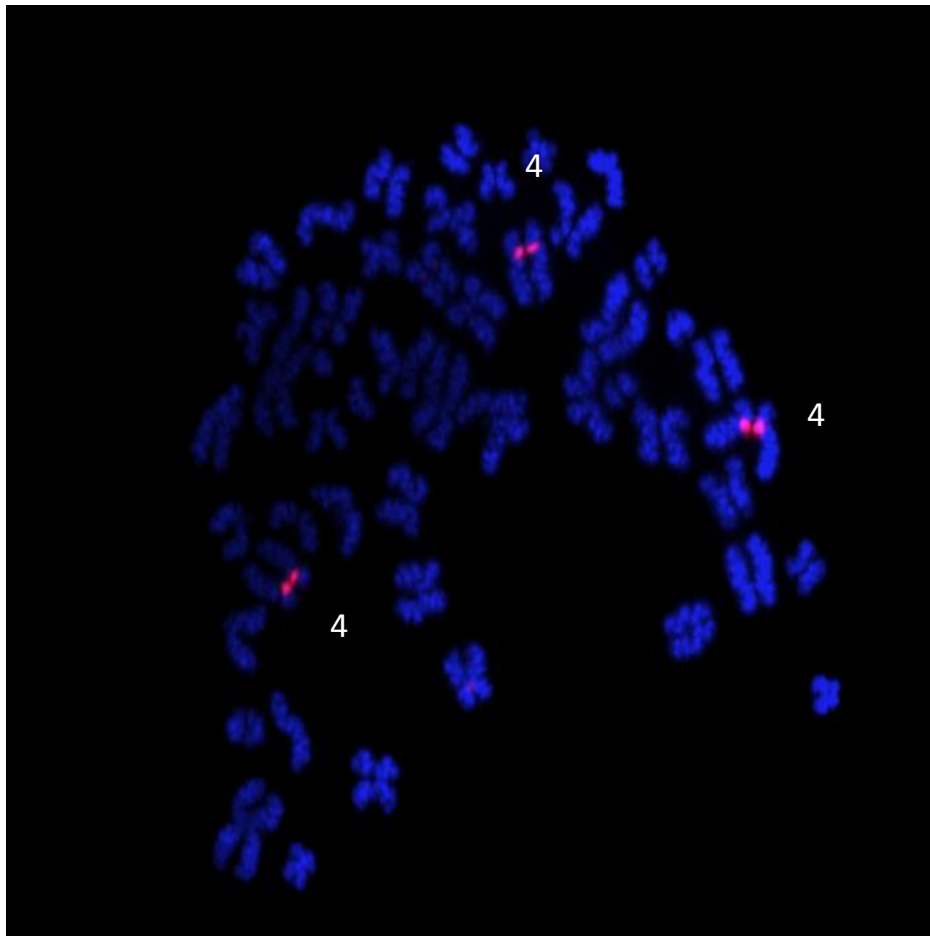
Délétion 6q



Mitose normale



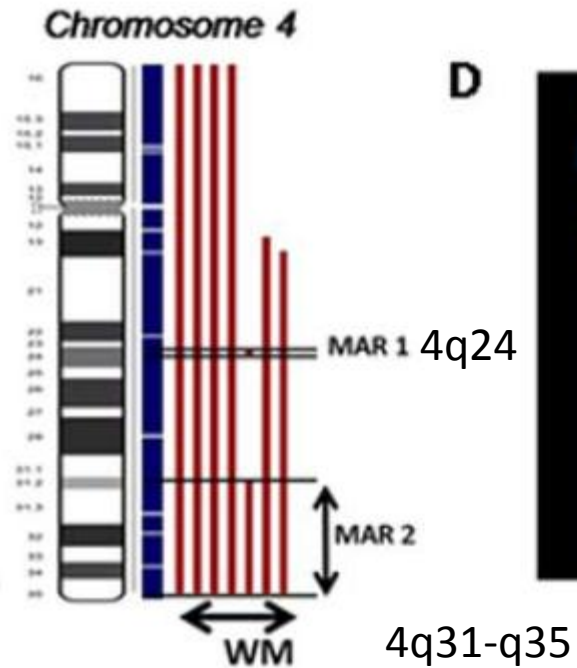
A



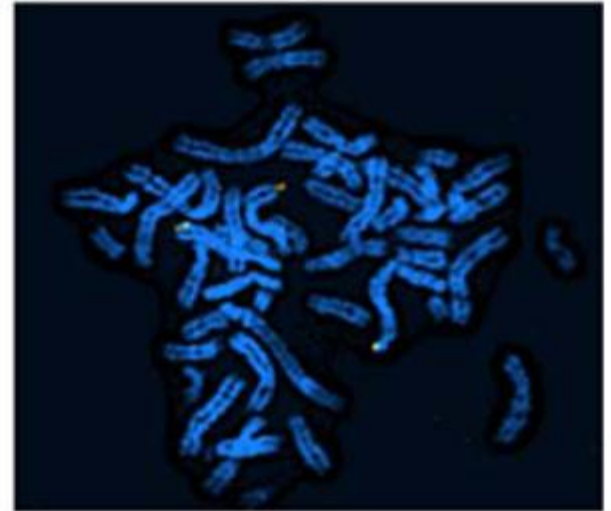
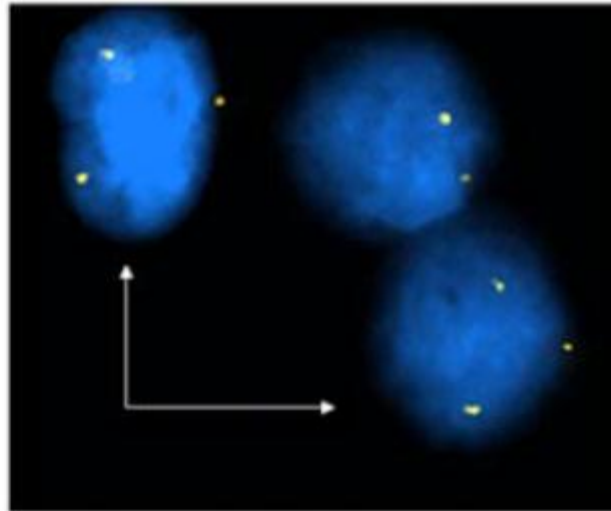
Terre et al., Leukemia 2006

Trisomie 4

Sonde CEP4 : chimérique
→ Sonde FIP1L1/CHIC1/PDGFR



D



S Poulain et al., AJH 2013

- Sonde FIP1L1/CHIC1/PDGFR (4q12) : peut rater des trisomies 4 partielles
- Sonde télomérique ?

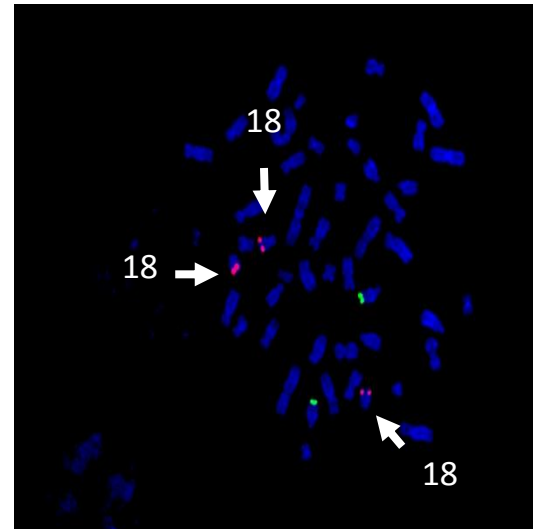
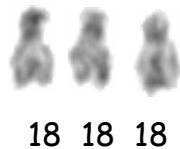
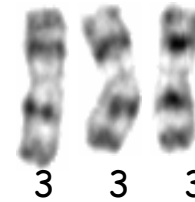
Lymphome de la zone marginale splénique

Anomalies les plus fréquentes :

Délétion 7q : 26-45% (7q32)

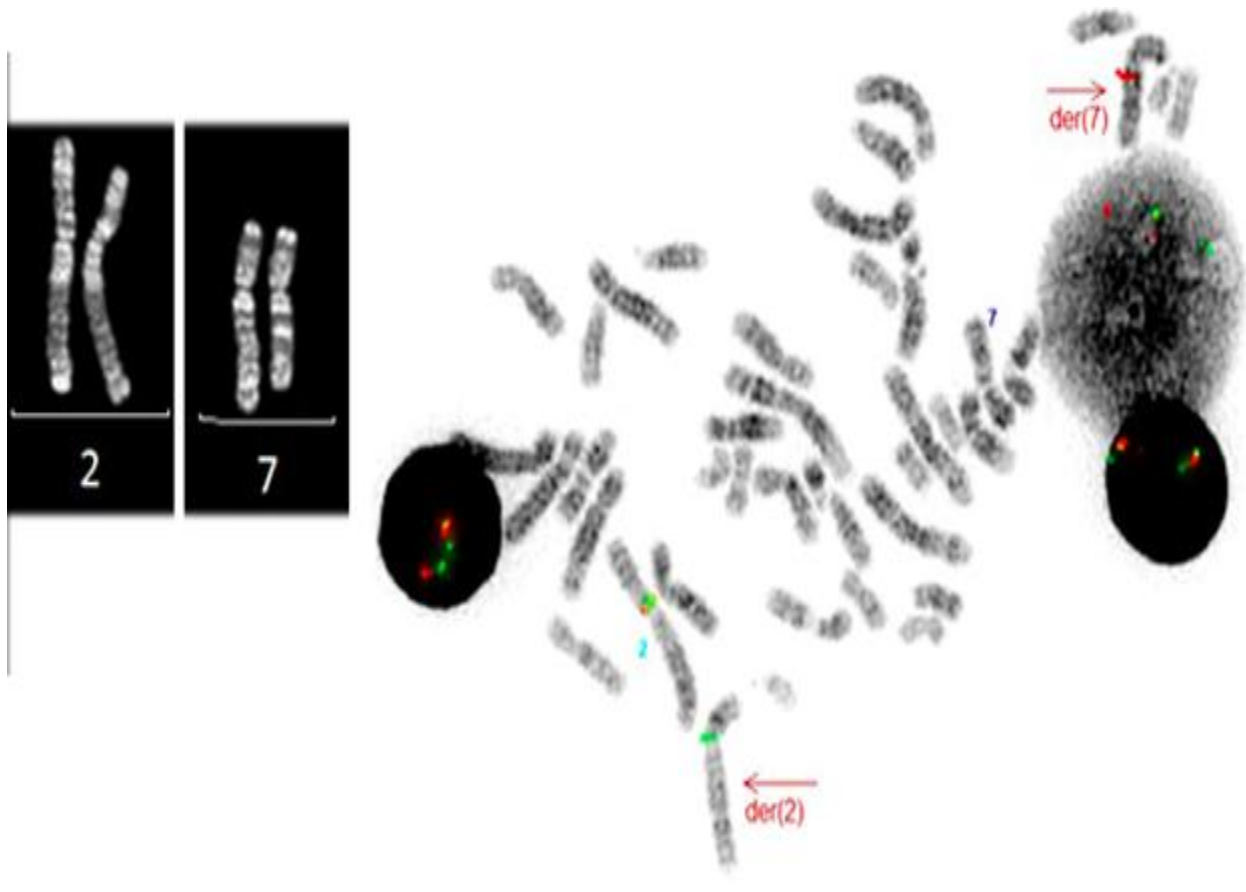
Trisomie 3 / 3q : 19-37%

Trisomie 18 / 18q : 10-28%



Lymphome de la zone marginale splénique

t(2;7)(q21;q32) IGK/CDK6



Rare < 5%

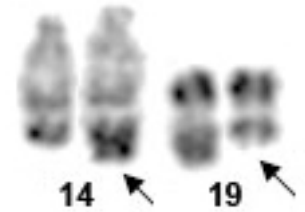
<http://atlasgeneticsoncology.org>

	MW	LZMS
Caryotype complexe (≥ 3)	+++	+++
del6q	++++	++
tri4	++	-
tri18	++	+++
del13q	++	+
del17p (<i>TP53</i>)	+	++
del11q (<i>ATM</i>)	+	-
tri 12	+	++
del7q	+/-	+++
tri3	+/-	+++
t(2;7)(<i>IGK/CDK6</i>)	-	+
t(14;19)(<i>IGH/BCL3</i>)	-	+

Schop et al., Blood 2002 ; Terre et al., Leukemia 2006 ; Chapiro et al., Leukemia 2009 ; Nguyen-Khac et al., Haematologica 2012 ; Salido et al., Blood, 2010 ; Poulain et al., Am J Hematol 2013 ; ; Braggio et al., Haematologica 2013 ; Poulain et al., Clin Cancer Res 2017 ; Swerdlow et al., WHO classification 2017 ; Sarkozy et al., Halldorsdottir et al., Genes Chrom Cancer 2011 ; Genes Chrom Cancer 2014;; Chapiro et al., en révision 2019

	MW	LZMS
Caryotype complexe (≥ 3)	+++	+++
del6q	++++	++
tri4	++	-
tri18	++	+++
del13q	++	+
del17p (TP53)	+	++
del11q (ATM)	+	-
tri 12	+	++
del7q	+/-	+++
tri3	+/-	+++
t(2;7)(IGK/CDK6)	-	+
t(14;19)(IGH/BCL3)	-	+

Schop et al., Blood 2002 ; Terre et al., Leukemia 2006 ; Chapiro et al., Leukemia 2009 ; Nguyen-Khac et al., Haematologica 2012 ; Salido et al., Blood, 2010 ; Poulain et al., Am J Hematol 2013 ; ; Braggio et al., Haematologica 2013 ; Poulain et al., Clin Cancer Res 2017 ; Swerdlow et al., WHO classification 2017 ; Sarkozy et al., Halldorsdottir et al., Genes Chrom Cancer 2011 ; Genes Chrom Cancer 2014;; Chapiro et al., en révision 2019



$t(14;19)(q32;q13)$ IGH/BCL3 (et variantes)

→ LLC (70%), Lymphome de la zone marginale (14%), SLPB non classable/autres (16%)

Pas de MW

Souvent LZM en progression

	MW	LZMS	LPL-B	LCM	LLC
Caryotype complexe (≥ 3)	+++	+++	++++	+++	++
del6q	++++	++	++	+/-	+
tri4	++	-	-	-	-
tri18	++	+++	++	+	+
del13q	++	+	++	+++	++++
del17p (TP53)	+	++	+++	++	+
del11q (ATM)	+	-	+	++	++
tri 12	+	++	++	+	++
del7q	+/-	+++	+/-	-	-
tri3	+/-	+++	++	++	+
t(2;7)(IGK/CDK6)	-	+	-	-	+/-
t(14;19)(IGH/BCL3)	-	+	-	+/-	+
t(11;14)	-	+/-	-	++++	-
t(MYC)	-	+	++++	+	+

Schop et al., Blood 2002 ; Terre et al., Leukemia 2006 ; Chapiro et al., Leukemia 2009 ; Nguyen-Khac et al., Haematologica 2012 ; Salido et al., Blood, 2010 ; Poulain et al., Am J Hematol 2013 ; ; Braggio et al., Haematologica 2013 ; Poulain et al., Clin Cancer Res 2017 ; Swerdlow et al., WHO classification 2017 ; Sarkozy et al., Halldorsdottir et al., Genes Chrom Cancer 2011 ; Genes Chrom Cancer 2014;; Chapiro et al., en révision 2019

	MW	LZMS	LPL-B	LCM	LLC
Caryotype complexe (≥ 3)	+++	+++	++++	+++	++
del6q	++++	++	++	+/-	+
tri4	++	-	-	-	-
tri18	++	+++	++	+	+
del13q	++	+	++	+++	++++
del17p (TP53)	+	++	+++	++	+
del11q (ATM)	+	-	+	++	++
tri 12	+	++	++	+	++
del7q	+/-	+++	+/-	-	-
tri3	+/-	+++	++	++	+
t(2;7)(IGK/CDK6)	-	+	-	-	+/-
t(14;19)(IGH/BCL3)	-	+	-	+/-	+
t(11;14)	-	+/-	-	++++	-
t(MYC)	-	+	++++	+	+

Schop et al., Blood 2002 ; Terre et al., Leukemia 2006 ; Chapiro et al., Leukemia 2009 ; Nguyen-Khac et al., Haematologica 2012 ; Salido et al., Blood, 2010 ; Poulain et al., Am J Hematol 2013 ; ; Braggio et al., Haematologica 2013 ; Poulain et al., Clin Cancer Res 2017 ; Swerdlow et al., WHO classification 2017 ; Sarkozy et al., Halldorsdottir et al., Genes Chrom Cancer 2011 ; Genes Chrom Cancer 2014;; Chapiro et al., en révision 2019

Homme, hyperlymphocytose + pic IgM

NUMÉRATION

Leucocytes	H 21.53 x10 ⁹ /l	(4.00 - 10.00)
Hématies	5.27 x10 ¹² /l	(4.50 - 5.80)
Hémoglobine	15.0 g/dl	(13.0 - 17.5)
Hématocrite	44.8 %	(40.0 - 54.0)
VGM	85.0 fl	(80.0 - 100.0)
TCMH	28.5 pg	(27.0 - 32.0)
CCMH	33.5 g/dl	(32.0 - 36.0)
Plaquettes	343 x10 ⁹ /l	(150 - 400)

FORMULE LEUCOCYTAIRE

Polynucléaires Neutrophiles	20.0 %	
Soit	4.31 x10 ⁹ /l	(2.00 - 7.50)
Polynucléaires Eosinophiles	0.0 %	
Soit	0.00 x10 ⁹ /l	(0.00 - 0.50)
Polynucléaires Basophiles	1.0 %	
Soit	H 0.22 x10 ⁹ /l	(<0.20)
Lymphocytes	74.0 %	
Soit	H 15.93 x10 ⁹ /l	(1.50 - 4.00)

Population lymphoïde pleomorphe avec des lymphocytes matures, quelques lymphocytes à cytoplasme étendu, rares lymphoplasmocytoides et prolymphocytes. Aspect plutôt évocateur d'un lymphome de la zone marginale que maladie de Waldenström

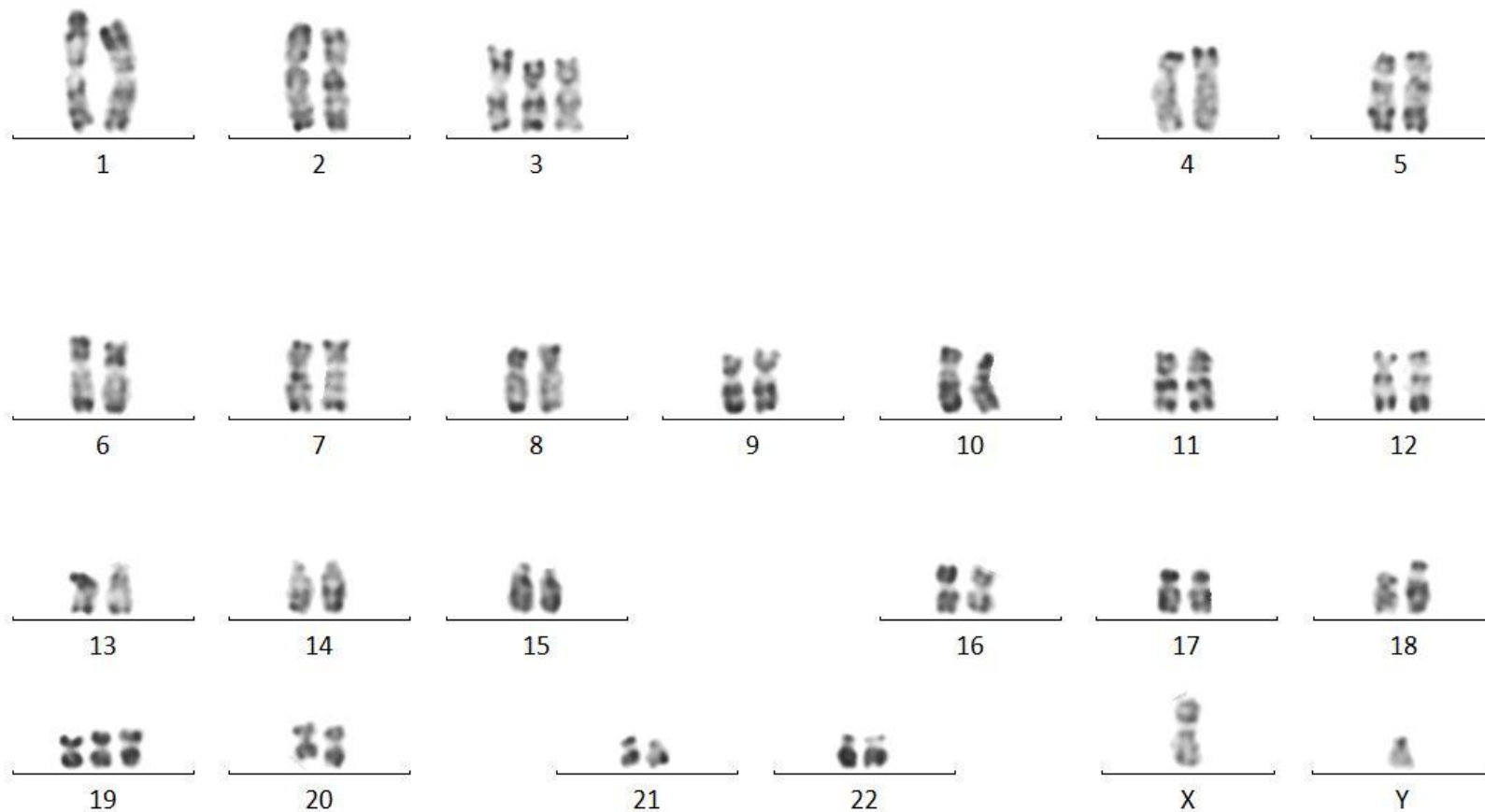
Monocytes

	5.0 %	
Soit	H 1.08 x10 ⁹ /l	(0.15 - 1.00)

Hyperlymphocytose avec présence d'une population lymphocytaire B, monotypique kappa de faible intensité, FMC7/CD20/CD23/CD13+, CD79b/CD22/CD200+ de faible intensité, CD5/CD27+ partiel, CD43/CD38/CD10/ROR1-, représentant 79% des lymphocytes, soit 50% des leucocytes.

Phénotype compatible avec un syndrome lymphoprolifératif chronique B, score de Matutes à 3-4, évocateur d'une maladie de Waldenström (CD13+ et CD22+ de faible intensité) plus que d'une LLC (CD20+, CD200+ de faible intensité et CD43/ROR1-).

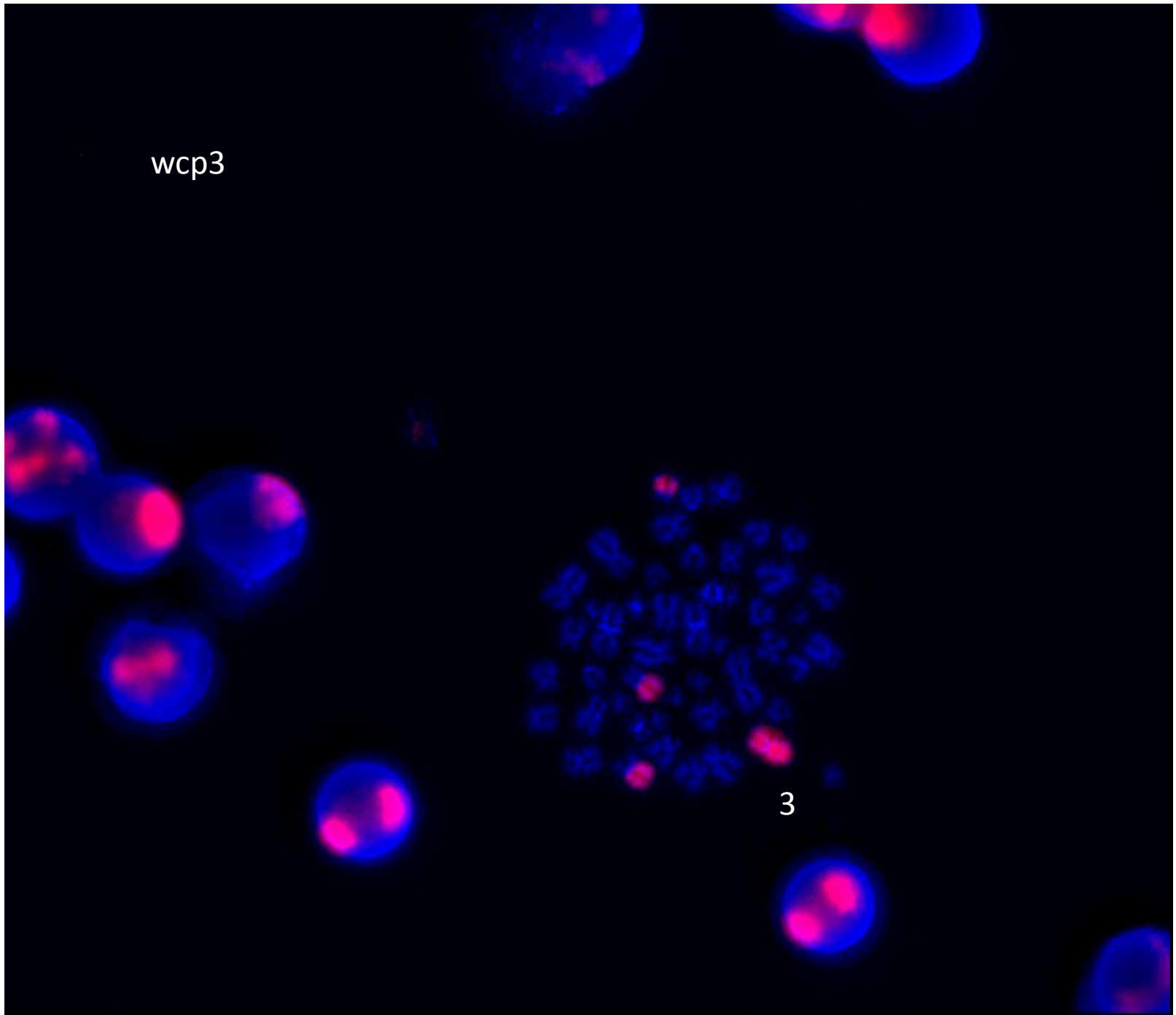
MYD88 : Analyse réalisée par NGS. Présence d'une mutation c.794T>C faux sens (p.Leu265Pro) dans l'exon 5 du gène MYD88 (VAF : 27%). Cette mutation a préalablement été identifiée comme ayant un effet délétère.



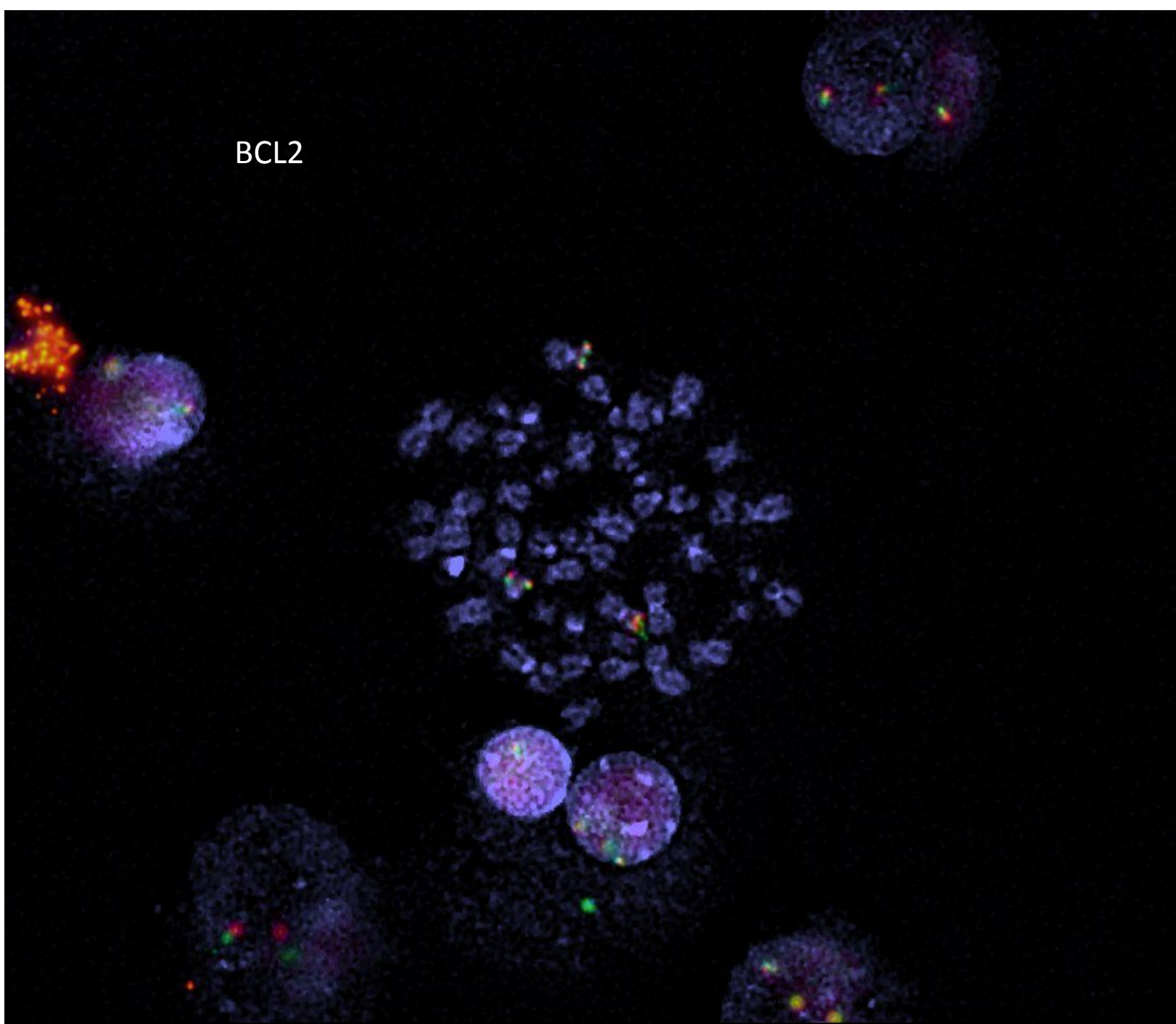
48,XY,t(3;18)(q11;p11),+der(3)t(3;18),+19[14]/46,XY[6]
 →tri3q, tri18q

wcp3

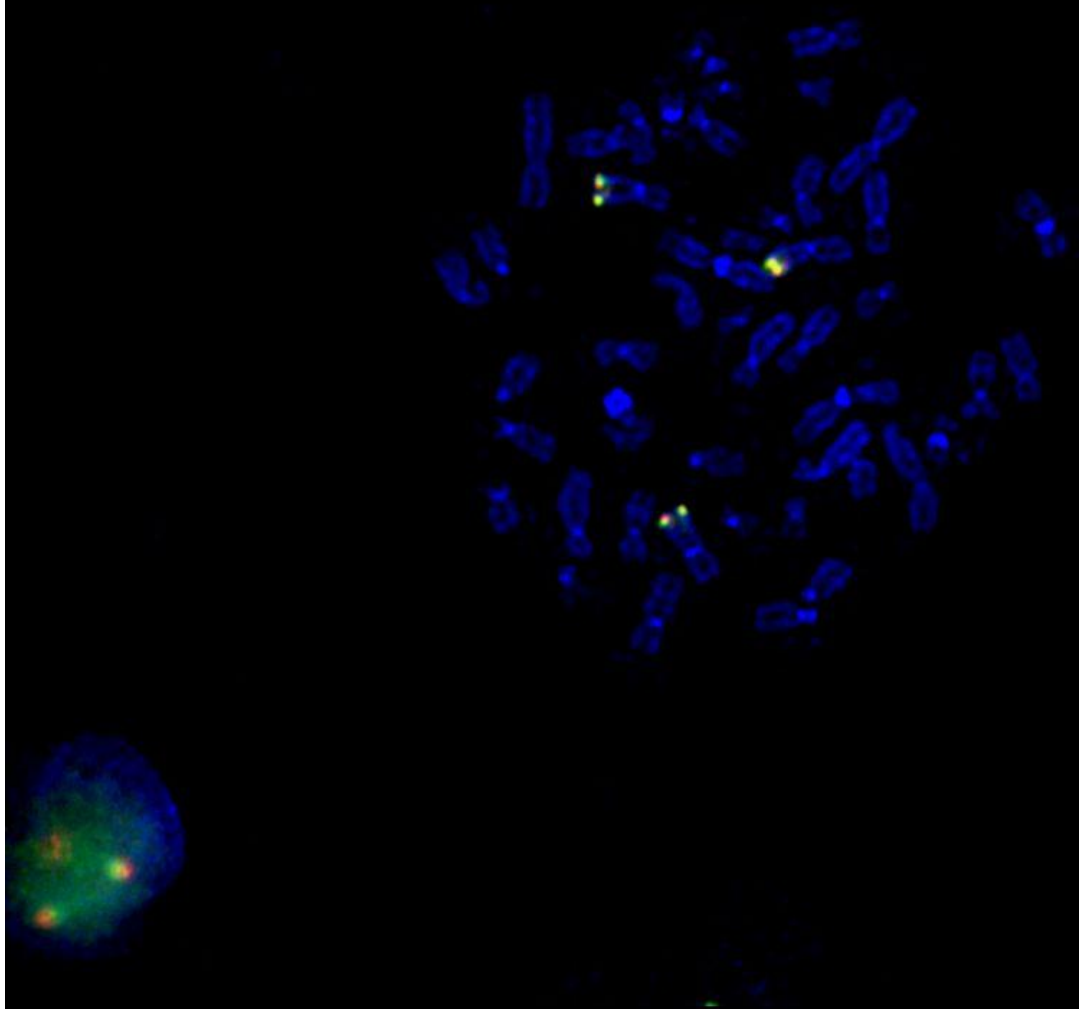
3



BCL2



BCL6



Caryotype

- Examen facile à réaliser
- Experts sur toute la France
- Recommandations du GFCH : homogénéisation des pratiques, arbres décisionnels
- Peut être rendu rapidement

- Analyse globale du génome
- Peut en une seule analyse voir translocations, pertes, gains

→ aide importante pour les formes frontières MW/LZMS