

MINISTERE DE L'ENSEINEMENT SUPERIEURE
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA.

FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES ET BIOLOGIQUES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLOME DE MASTER EN SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

Spécialité :

BIOSIGNALISATION CELLULAIRE ET MOLECULAIRE, IMMUNOLOGIE

Thème

**L'intérêt de l'étude anatomopathologique et immunohistochimique
dans la classification des lymphomes à cellules B.**

Soutenu le 17 /12 /2013 par Mlle :

BENTOUTA Cherifa

Devant de jury :

Mr Mohamed saïd R.

Maitre assistant A

U.S.D. Blida

Président

Melle Anane A.

Maitre assistante A

U.S.D. Blida

Examinatrice

Mme Benazouze F.

Maitre assistante A

U.S.D. Blida

Examinatrice

Mr Bessaad MA.

Maitre assistant B

U.S.D. Blida

Promoteur

Dr Benremouga M CH.

Maitre assistant A

H.C.A Aain Naaja

Co-promoteur

2012/2013

Entre novembre 2012 et juillet 2013, 70 cas de lymphome B ont été diagnostiqués au niveau de laboratoire d'anatomie pathologique du l'HCA.

III .1. : La répartition selon le sexe :

Notre série comprend 23 femmes et 47 hommes dont la fréquence est prédominante chez les hommes 67% que chez les femmes 33 %. La sex-ratio H/F=2 ,04 (Figure8)

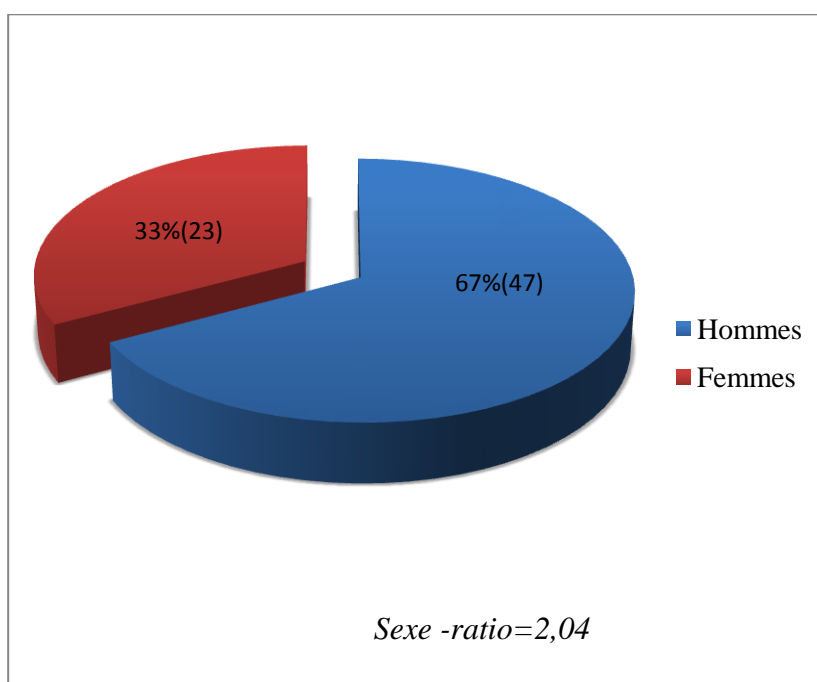


Figure 9 : La répartition des patients selon le sexe

III.2 : La répartition des patients selon les tranches d'âge :

L'âge de nos patients allait de 21 à 87 ans avec un âge moyen de 56 ans. Dans notre Série, nous avons identifié 7 tranches d'âges dont la fréquence des lymphomes B est variable :

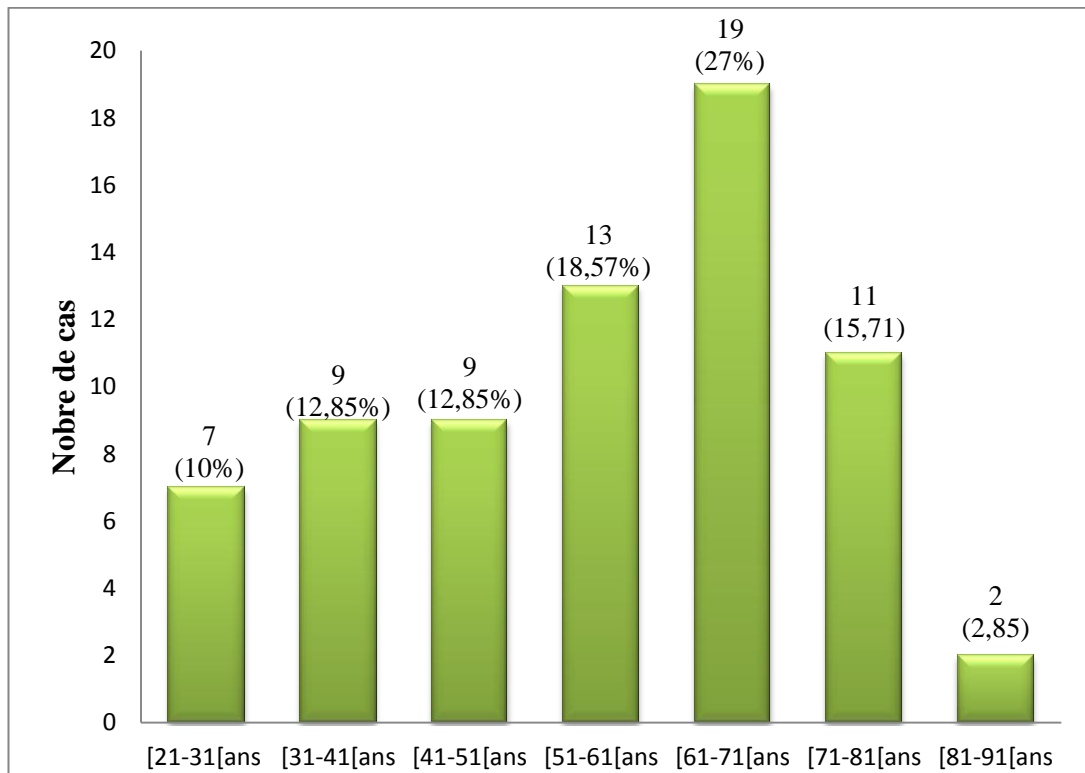


Figure 10: La répartition des lymphomes B selon les tranches d'âges

On remarque que la survenue présente un pic situé entre 61-71ans avec un nombre de 19 cas (27%) ; alors que les tranches d'âge 21-31ans, 81-91 ans constituent la plus faible proportion.

III .3 Répartition des lymphomes B selon la localisation :

Dans notre série, la localisation ganglionnaire présente dans 51% des cas (n=36), alors que les localisations extra-ganglionnaires sont notées dans 49 % des cas (n=34). Ces derniers cas sont repartis de la façon suivante : (figure 11).

- 32% des cas (n=11) à localisations gastriques.
- 14,7 % des cas (n=5) sont de localisation médullaire osseuse.
- Au niveau de la thyroïde on a noté 12% (n=4) des localisations extra-ganglionnaire.
- 8,82 % (n=3) des cas sont au niveau de la peau.
- 8,82 % (n=3) des cas localisée au niveau testiculaire.
- 2 cas (6 %) étaient de localisation pulmonaire.
- 2,94% des cas (n=1) sont localisés au niveau du foie.
- 2,94% des cas (n=1) sont localisés au niveau du cerveau.
- 2,94% des cas (n=1) sont localisés au niveau du colon.
- 2,94% des cas (n=1) sont localisés au niveau du pharynx.
- 2 ,94% des cas (n=1) sont localisés au niveau de la prostate.
- Une localisation musculo-adipeuse été notée.

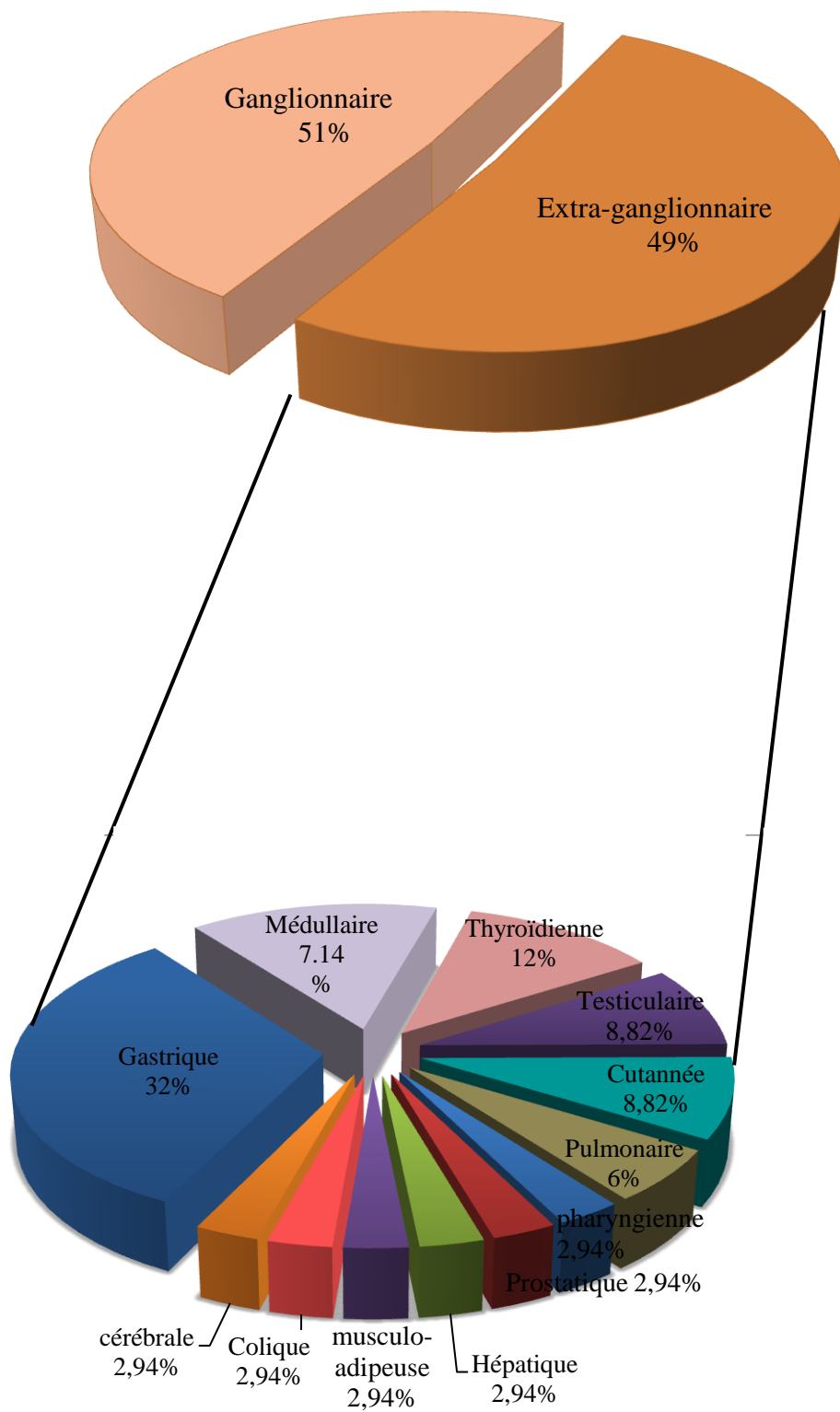


Figure 11 : la répartition des lymphomes B selon la localisation

III.4. La répartition des lymphomes B selon le type histologique :

Dans notre série, Le Lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC) représentent la majorité diagnostic le plus fréquent ; Il était porté chez 46 patients (66%).

Le lymphome de la zone marginale de type MALT vient à deuxième position avec un taux du 12 patient (17,14%).

Le lymphome à cellule du manteau(LCM), observé chez 6 patients

Le lymphome folliculaire (LF) était porté chez 4 cas (6%).

Le lymphome lymphocytaire (LLC) et le lymphome B riche en cellule T observées chez 2 cas.

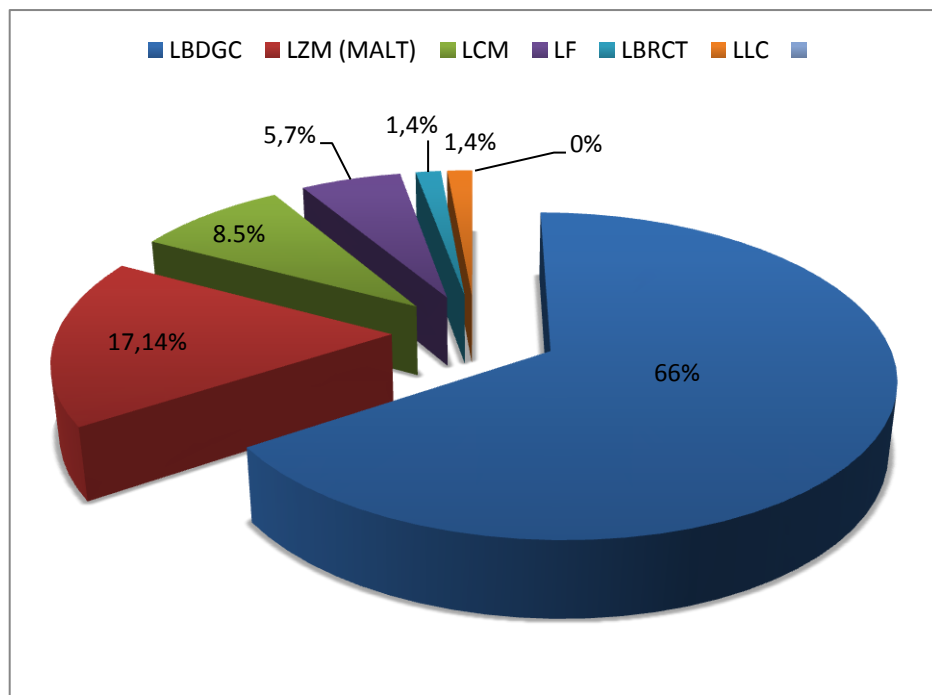


Figure12 : la répartition des lymphomes B en fonction des résultats immunohistochimique

III.5. Les résultats immunohistochimiques :

Le lymphome lymphocytaire (LLC):

Dans les 70 cas étudiés dans notre série, le LLC a été noté dans un seul cas : un homme âgé de 69 ans ; Le profil immunohistochimique trouvé était : CD 20+ ; CD 5+ ; CD 23+.

Le lymphome à cellules du manteau:

6 cas de lymphomes de type à cellule du manteau ont été classés dans notre série (5 hommes et une femme). L'âge est varié entre 55 ans et 78 ans.

L'immunohistochimie a été réalisée dans les 6 cas ; Le panel immunohistochimique utilisé dans notre série a comporté l'anti CD20, anti- cycline D1, anti- CD23, anti- BCL2 Les résultats trouvés sont:

- Le CD20 et la cycline D1 étaient positifs dans tous les cas.
- Le CD 23 était utilisé dans 3 cas où il était négatif pour les deux premiers cas et positif pour le troisième cas
- Le BCL2 était utilisé dans un seul cas et était négatif.

Les marqueurs	Le nombre d'utilisations	Le nombre des cas positifs
CD20	6	6
Cycline D1	6	6
CD 23	3	0
Bcl2	1	0

Les résultats du marquage dans les cas du lymphome à cellules du manteau

c. Le lymphome folliculaire :

4 cas de lymphomes folliculaires ont été retrouvés dans notre série. Ils sont diagnostiqués essentiellement entre l'âge de 65 et 68 ans ;L'immunohistochimie a été réalisée dans tous les cas. Les résultats obtenus montrent :

- Une expression du CD20 dans tous les cas.
- L'anti-BCL2 était utilisé dans 4 cas où il était positif.
- L'anti- CD3 était réalisé chez 2 patients et était négatif.
- L'anticorps CD23, réalisé dans 1 où il était positif.
- L'anticorps CD 5 réalisé chez 2 patients et était négatif.
- L'anti- Cycline D1 n'était réalisé que dans 1 cas et était négatif.

Les marqueurs	Le nombre d'utilisations	Le nombre des cas positifs
CD20	4	4
Bcl 2	4	4
CD 23	1	1
CD 5	2	0
Cycline D1	1	0

Les résultats du marquage dans les cas du lymphome folliculaire.

c. Le lymphome de la zone marginale (MALT):

Le LZM (MALT) a été noté chez **12** patients (**8** hommes et **4** femmes) : Les différents marqueurs utilisés pour la confirmation diagnostique étaient : Les anticorps anti-CD20, anti-CD79a, anti-CD3, anti-CD 23.

Les marqueurs	Le nombre d'utilisations	Le nombre des cas positifs
anti-CD20	12	12
anti- CD3	5	0
anti-CD79a	4	4
anti-CD23	2	0

Les résultats du marquage dans les cas du lymphome de la zone marginale (MALT)

D. le lymphome B diffus a grandes cellules :

46 cas de LBDGC ont été retrouvés dans notre série (15 Femmes et 26 hommes) ;

Le panel immunohistochimique utilisé dans notre série a comporté l'anti-CD20, anti-CD79a ; anti-CD45 ; anti-CD23, anti- BCL2, anti- CD3.

Anticorps	Le nombre d'utilisations	Le nombre des cas positifs
anti-CD20	46	46
anti- CD3	32	0
anti-CD79a	5	5
anti-CD45	5	5
anti- BCL2	3	3
anti-CD23	2	0

Les résultats du marquage dans les cas du lymphome diffus à grandes cellules B.

E. Lymphome B riche en cellules T.

Le LBRCT a été noté dans un seul cas : un homme âgé de 57 ans ; Le profil immunohistochimique trouvé était CD20+ ; CD3+ (marque les lymphocytes T réactionnelle).

La lecture des lames sous microscope optique a permis la prise des photos suivantes :

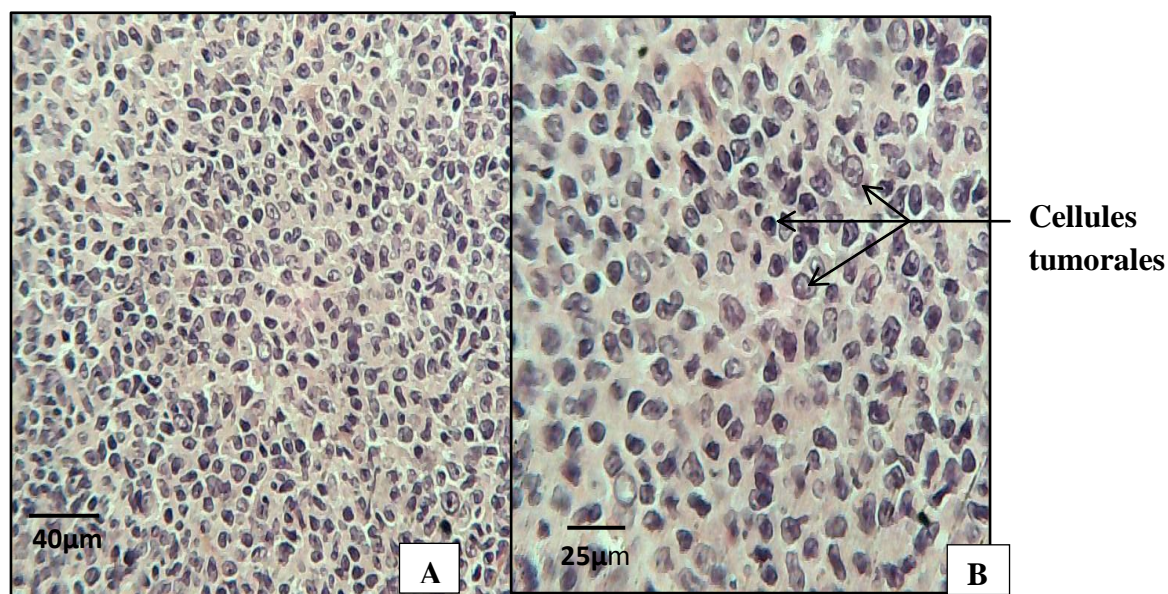


Figure 13 : Aspect histologique d'un lymphome diffus à grandes cellules B : une prolifération diffus des cellules tumorales(CT) de grande taille à cytoplasme éosinophile.

A : coloration hématoxyline éosine (He), Grossissement $\times 25$.

B : coloration He, Gr $\times 40$.

Prolifération lymphoïde tumorale faite de cellules tumorales (CT) de grande taille à noyau arrondi avec des contours irrégulières ; la chromatine est fine avec un à deux nucléole visibles ; le cytoplasme est abondant éosinophile avec des limites imprécises

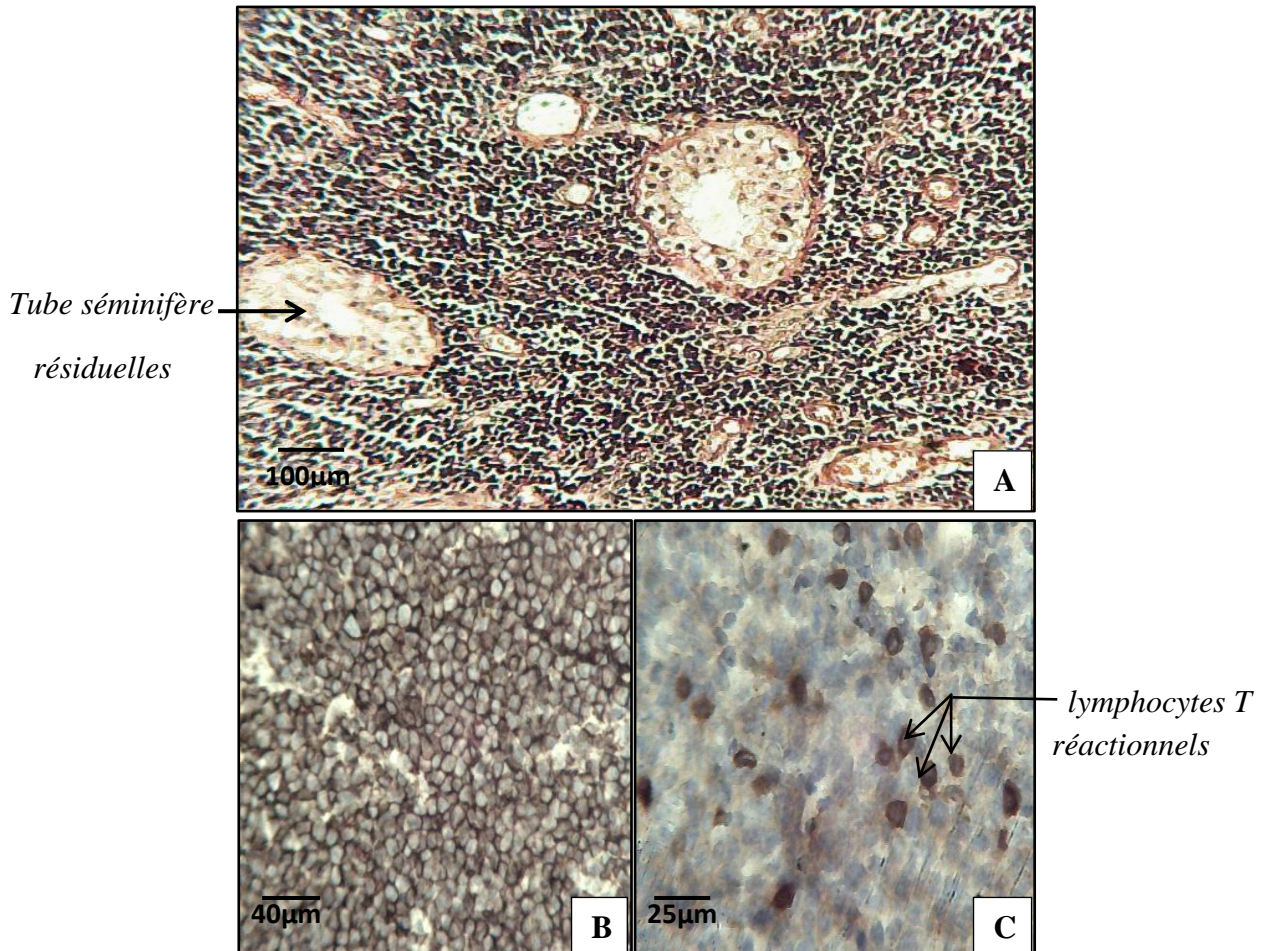


Figure 14 :Aspect microscopique d'un lymphome diffus à grandes cellule B ; à localisation testiculaire

A : prolifération d'architecture diffus des cellules lymphoïde tumorales qui infiltrent le parenchyme testiculaire. On note la présence du quelques tube séminifère résiduelles(TSR). (IT) : infiltration tumorale (Gr ×10).

B : au plus fort grossissement les cellules tumorales de grande taille sont marquées par

CD 20 : on note la positivité membranaire d'intensité vive de la quasitotalité des cellules tumorales. (Gr×25).

C : avec le marqueur CD 3on note quelques lymphocytes T réactionnels au sien de la population lymphoïdes tumorale qui elle est négative avec ce marqueur. (Gr×40).

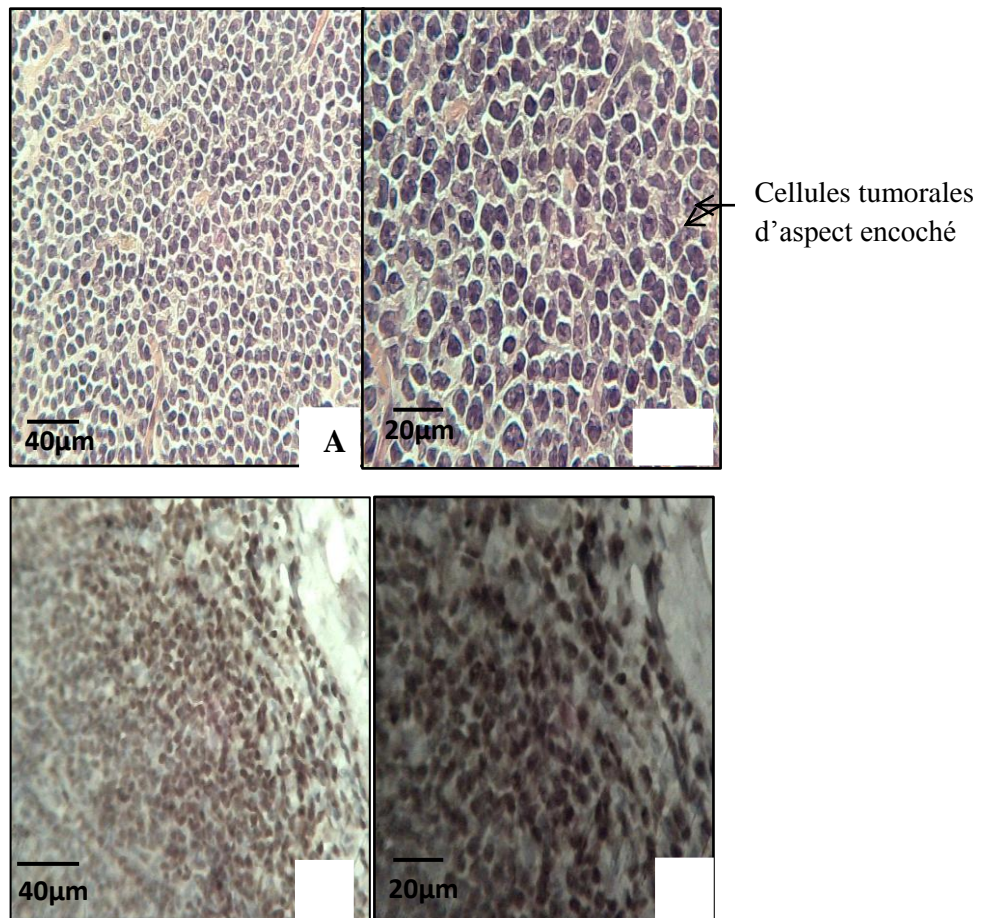


Figure 15 : Localisation ganglionnaire d'un Lymphome à cellules du manteau

A : coloration HE ; Gr $\times 25$.

B : coloration HE ; Gr $\times 40$

Prolifération monotone de cellules lymphoïdes tumorale(CT) du petites taille et d'aspect encoché ; peut arrondies ; avec un cytoplasme réduit.

C ($\times 25$) et D ($\times 40$) : l'expression de la cycline D1 par les cellules tumorales.

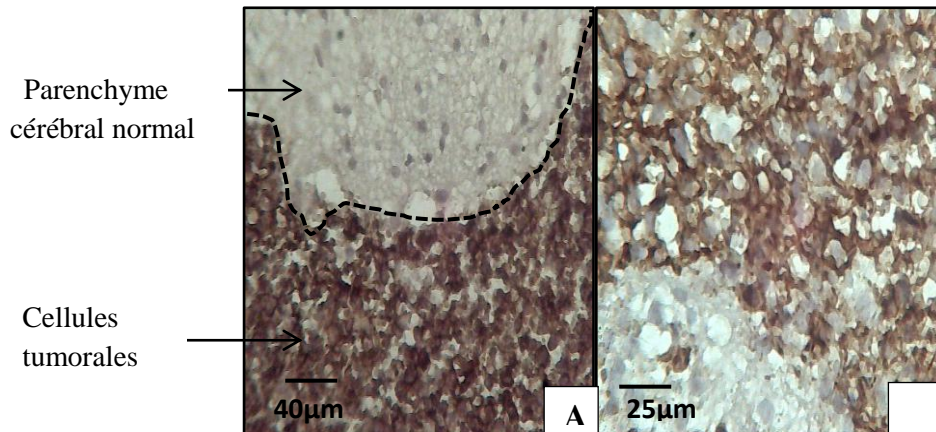


Figure 16 : Localisation cérébrale d'un LDGCB
 Marquage intensive de CD 20 par les cellules lymphomateuse ;
 le parenchyme cérébral est négatif au marquage.
 A : (Gr×25) - B : (Gr×40) PC : parenchyme cérébrale

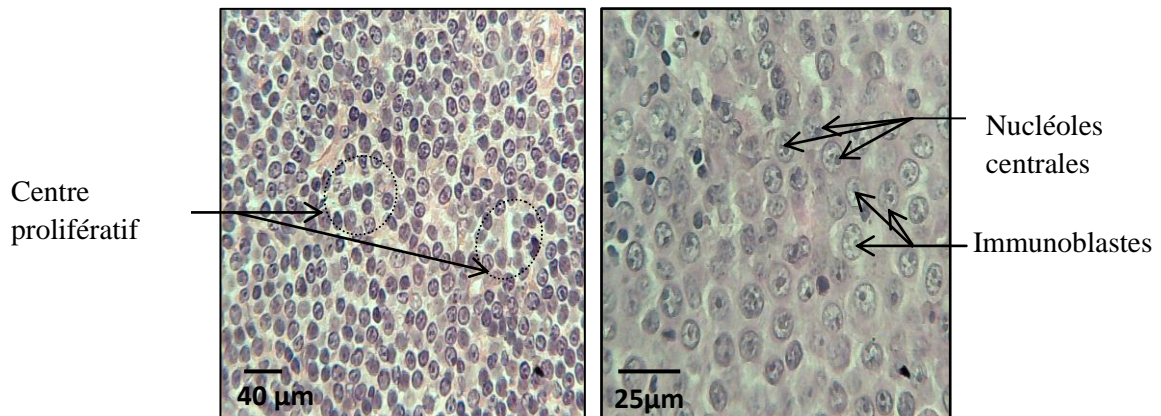


Figure 17 : Aspect histologique d'un lymphome lymphocytaire (LLC) représente une prolifération des cellules petite à moyenne taille. On note également la présence des centres prolifératifs (CP) faite de cellules plus grande taille (para-immunoblastes).

Coloration He ; Gr ×25.

Figure 18 : Architecture diffuse constituée de cellules lymphoïdes tumorales de grande taille (des immunoblastes) présentant un noyau arrondi avec des contours réguliers et un grand nucléole central et abondant éosinophile.

Coloration He ; Gr×40.



Figure 19 : Localisation ganglionnaire d'un lymphome folliculaire avec une architecture nodulaire. Coloration He.

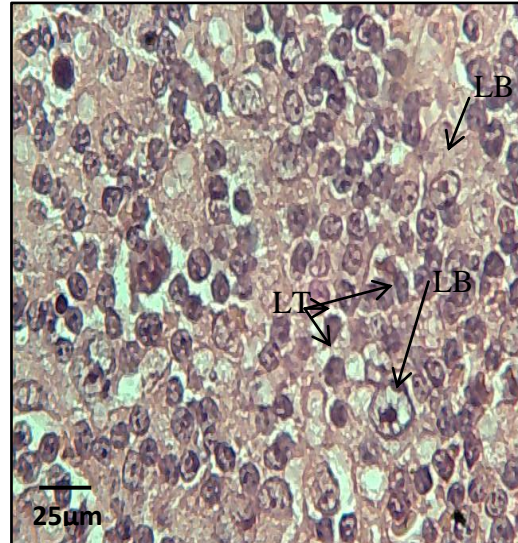


Figure 20 : Aspects histologique d'un lymphome B riche en cellules T : une prédominance des petits lymphocytes avec la présence de quelque lymphocyte B tumorale entourées par une population des lymphocytes T réactionnels.

Coloration He ; Gr×40.

Le but essentiel de ce travail est de classer les lymphomes B par l'étude analytique de résultats immunohistochimique. Notre étude a porté sur 70 malades atteints d'un lymphome B colligés durant une période de 9 mois s'étalant de novembre 2012 au mois de juillet 2013 au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique du l'hôpital centrale de l'armée « *docteur Mohamed Seghir NEKKACHE* ».

Ce travail est basé sur :

- Etude anatomoclinique.
- Etude histopathologique.

II.1.Matériel :

a) Echantillonnage :

Durant notre stage pratique ; nous avons réalisé une étude rétrospective (38 cas) et prospectives(32 cas). à partir des bloc paraffinés et des prélèvements fixés au formol 10%.

b) Matériel biologique :

- ❖ Pour l'étude rétrospective il s'agit des blocs archivés, inclus en paraffine comportant des fragments tissulaire obtenus souvent à partir des biopsies ou des pièces d'exérèse chirurgicale.

- ❖ Et il correspond, pour l'étude prospective ; des prélèvements ganglionnaire et extra-ganglionnaire fixés au formol à 10%, représentés par des fragments tissulaires, ou des biopsies.
Les prélèvements sont adresser du différent service à savoir : hématologie, gastro-entérologie, médecine interne, neurochirurgie, dermatologie...ect.

c) Matériel non biologique : (voir Annexe)

II.1 Méthodes :

a) Etude anatomoclinique :

Elle est établie à partir des fiches des malades accompagnants les prélèvements et dont les numéros des dossiers correspondent aux numéros du registre du laboratoire d'anatomie pathologique ; ces fiches comportent les renseignements suivants :

- le sexe et l'âge du malade.
- les signes cliniques.
- la nature du prélèvement.
- Le siège de la lésion tumorale maligne.

b) Etude anatomo-pathologique :

▪ Examen macroscopique : il a été effectué à partir des prélèvements fixés au formol 10% adressées au laboratoire d'anatomie pathologie ; au cours de cet examens le médecin est intéressé à l'étude de :

L'aspect externe, la couleur, la taille dans les trois dimensions, la consistance de la tumeur. La pièce est coupée en plusieurs tranches de section, pour détecter le ou les foyers tumoraux et également pour une obtenir une bonne fixation.



Prélèvement fixés au formol

c) Etude histologique : c'est un examen morphologique permet de préciser l'architecture du lymphome (*folliculaire ou diffus*) et l'aspect des cellules lymphomateuses (*petit ou grand*).

↗ Une fixation des prélèvements dans le formol à 10 % permet une conservation des tissus en les fixant dans un état semblable à l'état normale.

↗ La mise en cassettes : ces prélèvements sont inclus dans une cassette en plastique portant le numéro d'identification correspondant puis immédiatement immergées dans une solution de formol à 10% pendant 24heurs.

↗ Déshydratation: réalisé par un appareil de circulation, consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient (*étapes : voir annexe*)

↗ Inclusion à la paraffine : a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières (*étape : voir annexe*).

↗ Confection et étalement des coupes : Après avoir placé la cassette sur le support du microtome ; les blocs vont d'abord subir un dégrossissement afin d'éliminer le surplus de la paraffine (20 μ). l'épaisseur de la coupe est réglée à 3 μ pour obtenir un ruban contenant le tissu. Le ruban est par la suite étalé dans un bain marie à 49°C afin de déplier les coupes.

↗ Coloration histologique :

La coloration standard à l'hématoxyline, éosine (HE) est une coloration morphologique de routine pour réaliser un examen histologique standard. Hématoxyline est un colorant basique qui colore les noyaux en bleu, l'éosine est un colorant acide qui colore le cytoplasme en rose ou en rouge.

d) Etude immunohistochimique :

Cette étude a été réalisée dans les 70 cas, les anticorps utilisés sont : anti- CD20, anti- CD79a, anti- CD23, anti- CD5, anti- CD3, anti-CD45, anti- BCL2, anti- Cycline D1.

Caractéristiques des anticorps monoclonaux :

Anticorps monoclonaux	L'expression	Intérêt en hématologie
Monoclonal Mouse Anti-Human CD 20	Membranaire	LNH B
Monoclonal Mouse Anti-Human CD79a	Membranaire / Cytoplasmique.	LDGCB LZM(MALT)
Monoclonal Mouse Anti-Human CD23	Membranaire	LDGCB LZM(MALT)
Monoclonal Mouse Anti-Human CD5	Membranaire	LLC LCM
Polyclonal Rabbit Anti-Human CD3	Membranaire / Cytoplasmique.	Marque les lymphocytes T réactionnelles.
Monoclonal Mouse Anti- Human BCL2	Cytoplasmique.	Lymphome folliculaire
Monoclonal Mouse Anti- Human Cycline D1	Cytoplasmique.	LCM
Monoclonal Mouse Anti-Human CD45	Membranaire	LDGCB

Le Principe :

Pour déterminer l'expression des antigènes ciblés ; nous avons sélectionné une méthode immunoenzymatique indirect : de type streptavidine/biotine-peroxydase.

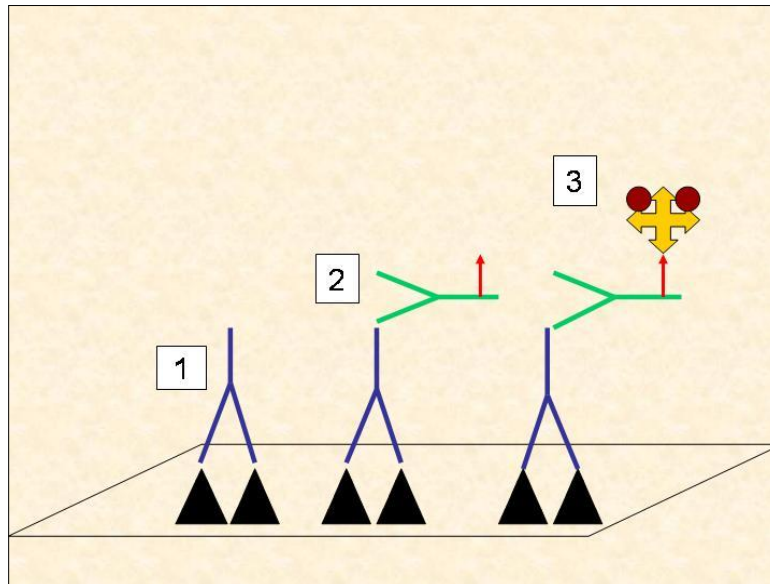


Figure 7: principe de la technique indirecte d'immunomarquage

- 1) L'anticorps primaire (*bleu*) se fixe à l'antigène (*triangle noir*).
- 2) L'anticorps secondaire (*vert*) se fixe à l'anticorps primaire et porte une molécule de biotine (*flèche rouge*).
- 3) La biotine fixe un complexe stérptavidine-peroxydase qui peut être elle-même relié deux molécules de chromogène diaibenzidine (DAB).

La réaction enzyme substrat dégage une coloration brunâtre visualisée sous microscope photonique.

Mode opératoire :

*Réalisation des coupes :

Les coupes tissulaires réalisées à l'aide du microtome dont l'épaisseur est de 3µm, ont été déparaffiner à la surface d'un bain marie réglé à 49 °C, puis recueillies sur des lames silanisées préalablement numérotées, après séchage les lames ont été mises dans une étuve à 64° pendant une nuit.

*Déparaffinage et réhydratation : passage des lames dans :

- Trois bains de xylène (5minutes pour chacun).
- Trois bains d'alcool à concentration décroissants (95% ; 75% ; 65%).
- Un bain d'eau distillée (5 minute).

*Démasquage antigénique : afin d'améliorer l'exposition des épitopes antigéniques ciblés sur la surface de la coupe tissulaire ; en transférant les lames dans le bac de solution de démasquage TRS (target à pH 6/9) et les incuber dans un bain-marie (98°C) pendant 40 minutes.

- Sortir le bac du bain marie et laisser refroidir sur la pailleasse.
- Faire passer les lames dans deux bains d'eau distillée (5 minute pour chacun).
- Lavage en BPS (5minutes)

*Immunomarquage :

- Préparation de la chambre humide (*plateau + compresse humide*) pour éviter la déshydratation.
- Cercler chaque fragment avec un stylo « DaKopen» afin d'inhiber la dispersion et la perte des réactifs.
- Application de l'anticorps primaire (30minute).
- Rinçage en BPS deux fois
- Blocage de la peroxydase endogène : application du H₂O₂ (*eau oxygénée à 3%*) pendant 10 minutes.
- Rinçage en BPS.
- Sécher les lames sans toucher les fragments.

- Appliquer l'anticorps secondaire (30minute).
- Rinçage en BPS deux fois.
- Appliquer le substrat chromogène DAB (système révélateur qui marque en brune les interactions (anticorps-antigène) pendant 10 minutes.
- Un bon rinçage en eau distillée pour éliminer l'excès de la DAB.
- Contre coloration : passage dans l'hématoxyline de MEYER (5minutes).
- Déshydrations : par le passage des lames en trois bains d'alcool à concentration croissante.

*Montage et observation :

Une goutte du milieu de montage « Eukit » a été déposée sur la coupe ; sur laquelle une lamelle a été appliquée de façon que l'Eukit recouvre l'ensemble de la coupe. L'observation et l'interprétation sont réalisées à l'aide d'un microscope optique à différents grossissements ; la prise des photos est réalisée par un appareil photos numérique.

INTRODUCTION

Les lymphomes à cellules B désignent des proliférations clonales des cellules des lignées lymphocytaire B à leurs différents stades de différenciation et d'activation ; Ils sont responsables du développement de tumeurs au niveau des organes lymphoïdes, notamment ganglionnaires, mais aussi de territoire extra-ganglionnaire (*delsol et al ; 2010*).

Ils constituent un groupe très hétérogène de maladies, sachant que chaque entité possède une épidémiologie, une présentation clinique, un profil évolutif, un traitement et un pronostic en conséquent et donc qui lui est propre ; davantage, même au sein d'un sous-groupe, il existe une grande hétérogénéité dans l'évolution clinique des patients, ce qui rend leur prise en charge difficile (*Evans et al ; 2003*).

Les données cliniques et l'examen histopathologique conservent une place primordiale dans la classification de lymphomes ; toutefois les techniques immunohistochimiques, le développement des anticorps monoclonaux ont permis de profonds remaniements dans la classification de ces tumeurs (*Russano et al ; 2008*).

Une classification exacte est donc essentielle pour une bonne prise en charge thérapeutique, elle permet de définir des entités anatomo-cliniques, distinctes les unes des autres par leur morphologie, leur expression clinique, et possible également de réunir les différents lymphomes dans des cohortes de patients traités selon le même protocole thérapeutique et de comparer leur évolution et les résultats (*Diebold et al;1998*).

Dans ce contexte ; notre étude s'attèle à classer les lymphomes B selon les aspects morphologique et immunohistochimique ; Ce travail nous a donc permis de :

- ✓ Déterminer l'intérêt de l'immunohistochimie dans le diagnostic de ces lymphomes et étudier l'expression des marqueurs dans chaque type.
- ✓ Classer ces lymphomes selon la nouvelle classification de l'OMS 2008.

Notre travail est basé sur une étude; anatomo-clinique et histopathologique de 70 des cas de lymphomes B qui sont analysés au niveau du laboratoire d'anatomie-pathologique de l'Hôpital centrale de l'armée «docteur Mohamed Seghir Nekkache» sur une période de 9 mois.

Nous avons discutés nos résultats selon plusieurs éléments:

➤ Selon le sexe et l'âge :

L'analyse des données épidémiologique témoigne d'une prédominance masculine avec 47 homme contre 23 femmes, soit un sex-ratio de 2,04.

D'après les 70 fiches consultées dans notre série, il ressort que l'âge le plus touché est entre 61 et 71 avec un taux de 27%, le vieillissement et la diminution des réponses immunitaires serait l'une des causes de l'augmentation de la fréquence des lymphomes non hodgkiniens chez les personnes âgées (*Carli et al 1994*).

Selon les auteurs (*Eve et al ; 2000*), la plupart des patients ayant un lymphome B ont un âge moyen de plus de 60 ans, alors qu'une minorité est diagnostiquée à l'âge adulte jeune, avec une nette prédominance masculine.

On département d'Oran ; un taux d'incidence standardisé moyen des LNH égale à 11,6/100 000 chez l'homme et 9,6/100 000 pour la femme (*sex-ratio=1,2*) ; a été enregistré dans une étude faite par *Midoun et al (2004)* où le nombre d'échantillonnage été plus de 1500000 habitants.

L'incidence de lymphomes non hodgkiniens selon le sexe varie encore fortement en fonction de la géolocalisation. Notamment, une différence apparaît entre pays développés (Amérique du nord, en Europe de l'Ouest et en Océanie) et pays en voie de développement (Asie et en Afrique). L'incidence standardisée selon le sexe représente respectivement 10,3 et 6,6 pour 100000 par an chez l'homme et la femme vivant dans des pays développés et 4,3 - 2,6 dans des pays moins développés. (*Muller et al. 2004*).

➤ Selon la localisation :

Dans notre travail ; le nombre de cas à localisation ganglionnaire et celle à localisation extra-ganglionnaire est très rapproché ; il représente respectivement 36(51%) et 34(49%), Jacques et *al* (2008) ont indiqués que la localisation extra ganglionnaire représente 40% des lymphomes non hodgkiniens.

La résultat du *Ruskoné et al (2005)* a montré que les localisations digestives sont les plus fréquentes des formes extra-ganglionnaire (36%).ce qui corrobore avec nos résultats (32% gastrique, 3% pharyngienne; 3% colique)

L'estomac est normalement dépourvu de tissu lymphoïde, mais il reste la localisation la plus fréquente en fait que un tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT) est acquis lors d'une infection chronique, toutes les études montrent le rôle de l'H.pylori comme facteur déclenchant. (*Thomas et al ;2001*) ; Cette bactérie est parfaitement bien adapté à l'estomac de l'homme grâce à tout un arsenal lui permettant de résister à l'acidité gastrique, de se mouvoir dans la muqueuse gastrique et d'échapper à la réponse immune de l'hôte. (*Lehours et al;2005*).

* D'après nos résultats ; la localisation testiculaire est présente avec un pourcentage de 9% ; des résultats comparables sont décrits par (*Mouhsine et al ; 2008*) qui ont démontrés que la localisation testiculaire représente 7 % des lymphomes B extra-ganglionnaire.

➤ Selon le type histologique :

Dans notre série il existe plusieurs types histologiques des lymphomes B ; Selon *Jaffe et al(2001)* ; la grande variété des réponses immunitaires cellulaires et humorales pouvaient être expliquée l'existence de plusieurs types de lymphomes B.

Ce tableau présente nos résultats en comparaison avec l'OMS 2008 et avec autres littérateurs.

Le type histologique	Notre série	OMS 2008	Autre littérateurs	Références
LBDGC	66%	42%	38% 31%	<i>Saskia et al(2012)</i> <i>N=54015</i> <i>Maurizio et al(2013)</i>
LZM(MALT)	17,14%	9%	7% - 8 % 4% 8%	<i>Martinelli et al (2007)</i> <i>Saskia et al(2012)</i> <i>Evans et al (2003)</i>
LCM	8,5%	7%	5 à 10 %	<i>Barista et al (2001)</i>
LF	5,7%	29%	22 %-35 % 15%	<i>Bosly et al (2004)</i> <i>Saskia et al(2012)</i>
LLC	1.4%	18%	25%	<i>Saskia et al(2012)</i>
LBRCT	1.4%	0,8%	1% -2%	<i>Olivier et al(2003)</i>

Tableau : Tableau comparatif de la fréquence des lymphomes B réparties selon le type histologique

- ❖ le lymphome B diffus à grandes cellules représente le type le plus fréquent dans nos séries, l'étude de *Saskia et al(2012)*, *Maurizio et al(2012)* montrent également la fréquence de ce lymphome. mais les proportions n'été pas rapprochées.

- ❖ Les données épidémiologiques concernant le lymphome de la zone marginale MALT sont très disparates. Une étude épidémiologique récente menée en Allemagne a permis d'estimer l'incidence à 0,7-0,8 pour 100 000 avec un ratio légèrement en faveur du sexe masculin. Cette incidence semble être comparable à celle des autres pays européens. Dans les pays du Maghreb, on estime l'incidence à 6,3 pour 100 000 pour les hommes et 3,8 pour 100 000 pour les femmes : « sex-ratio 1,65 » (*Lehours et al ;2005*), ce qui est en accord avec notre résultats où le LZM (MALT) été noté chez 12 patients (8 hommes et 4 femmes ; *sex-ratio=2*).

- ❖ Pour le lymphome à cellules du manteau ; des résultats similaires à notre études sont notées dans le tableau.

- ❖ Dans notre série le lymphome folliculaires représentés avec un pourcentage de 5,7%, qui été faible para port : l'OMS 2008, *Bosly et al (2004)* et *Saskia et al(2012)*. D'après *Doyen et al (2006)* le lymphome folliculaire est le second type le plus fréquemment rencontré en Europe occidentale et aux États-Unis, il est moins fréquent chez les Noirs que chez les Blancs ; et il est rare en Asie et dans les pays en voie de développement ; ce qui évoque l'implication de facteurs environnementaux ou liés à l'hôte, influencés par la géographie.

- ❖ Le lymphome lymphocytaire représente 1,4% des cas de notre série, mais il est moins fréquent pour les autres littérateurs. Tous fois ces constatation reste à confirmer vue le nombre de échantillons qui probablement faible.
- ❖ lymphome B riche en cellules T ; Des résultats similaires à non études sont notées dans le tableau.

Afin de déterminer les différent sous-groupes de lymphome B, une étude immunohistochimique a été effectuée sur la totalité des cas classer préalablement suit à l'étude anatomo-pathologique; les principaux anticorps monoclonaux choisies sont : anti CD20 ; anti-79a ; anti-CD 23 ; anti-CD3 ; anti-CD5 ; anti-Bcl2, Anti-cyclineD1, anti-CD45.

Le CD20 est un marqueur membranaire, qui marque les cellules B jusqu'au stade B mémoire (voir figure 4: page 8), plus de 90% des lymphomes non hodgkiniens à cellules B expriment le CD20 (*Hans et al ; 2004*). ce que fait de lui marqueur de choix principale.

Dans notre série tous les cas sont marqués positivement par l'anti-CD20, Ce qui confirme que ces lymphomes sont effectivement d'origine B.

Notre résultats démontrent que l'expression du CD79a était positive dans tous les cas ; L'utilisation de cet marqueur cytoplasmique nous a permis de s'affirme le diagnostic en faveur d'un lymphome da la zone marginale (MALT) dans 4 cas et le lymphome B diffus à grandes cellules dans 5cas.

En pratique l'anti-CD 45 est très utile pour différencier un lymphome malin (CD 45+) des tumeurs non lymphoïde d'aspect indifférencier, (CD45-) : carcinome, mélanome, sarcome. On était utilisé ce marqueur dans 5 cas du LBDGC et il été positif.

Tous les lymphomes B à petites cellules représentent une positivité au Bcl2 ; et il est également positif dans certains types de lymphomes à grandes cellules. L'intérêt du Bcl 2 réside sortant dans ca positivité au niveau du centre germinatif pour

les lymphome folliculaire. (à l'état normale le Bcl2 est négatif dans les centres germinatifs)

L'analyse des résultats d'immunomarquage de Bcl2 montre l'expression de cet oncoprotéine dans tous les lymphomes folliculaires, (*Benattar et al ;2003*) a indiqués une expression dans 85% dans le lymphome folliculaire, ce qui corrobore avec nos résultats.

Tous les lymphomes folliculaires ont des anomalies cytogénétiques ; La plus fréquente est la translocation t(14;18) (q32;q21), présente dans 80 à 90 % des cas. Dans cette translocation, un des gènes BCL2 localisé sur le chromosome 18 est juxtaposé aux séquences régulatrices du gène des chaînes lourdes des immunoglobulines sur le chromosome 14 ; Cette translocation résulte en une transcription augmentée du gène BCL2, avec des taux élevés de protéine BCL-2 qui appartient à la famille des régulateurs de l'apoptose et inhibe l'apoptose lorsqu'il est exprimé en excès, conférant un avantage de survie aux cellules lymphomateuses (*Doyen et al ; 2004*).

D'après nos résultats, la cycline D1 représente le marquage immunohistochimique le plus important dans les lymphomes à cellules du manteau avec un pourcentage de 100% ; est un élément clés du diagnostic de ce lymphome ; d'après *Steven et al (2011)* : l'expression de la cycline D1 est présente dans 95% des cas atteintes un LCM. La surexpression de la cycline D1 dans les LCM entraîne l'accélération de la transition G1/S. Plus récemment, il a été démontré que le dérèglement de l'expression de la cycline D1 pouvait être absent dans de rares cas.

Conclusion

Les lymphomes à cellules B représentent la variété la plus fréquente des lymphomes ; ils regroupent de nombreuses entités différentes, en particulier sur le plan : clinique, histopathologique, pronostique.

L'apport de l'immunohistochimie dans la classification des lymphomes est devenue une importante voie primordiale pour révéler leur nature, préciser leur type ; par l'utilisation d'anticorps spécifiques qui permettent d'affirmer ou d'infirmer une hypothèse diagnostique formulée après analyse histologique.

Notre étude au niveau de laboratoire d'anatomie-pathologique a permis de ressortir les points suivants :

- Les lymphomes à cellules B peuvent survenir généralement à tous l'âge, mais sont plus fréquents chez les sujets âgés ;
- Le sexe masculin est le plus souvent touché que le sexe féminin (*sex-ratio 2,04*)
- En raison de l'hétérogénéité fonctionnelle des cellules lymphoïdes B et de leurs répartitions anatomiques ubiquitaires, ces lymphomes peuvent se développer au sein de n'importe quel organe ; dans notre série la localisation ganglionnaire était la plus fréquente suivie de la localisation gastrique. Ce qui concorde avec les résultats de la littérature.
- Notre série se distingue des autres séries de la littérature par la fréquence des lymphomes diffus à grandes cellules et la rareté des autres lymphomes (leucémie lymphoïde chronique ; lymphome folliculaire)

La classification des lymphomes à cellules B est toujours possible par l'immunohistochimie, cependant cette technique s'avère insuffisante pour le typage exact de certains lymphomes (accessibilité de certains marqueurs) où l'appel de la technique de la biologie moléculaire plus performante est nécessaire (technique de FISH)

I.1. Rappel anatomique et fonctionnelles :

I.1.1. Le système lymphatique :

Le système lymphatique possède des fonctions physiologiques diverses telles que l'homéostasie des fluides corporels, l'absorption des graisses alimentaires et la participation aux défenses immunitaires. (Henno *et al*, 2008) ; Il représente le lieu de différenciation et de maturation des différentes lignées lymphocytaires. Ce tissu se répartit soit en organes, soit sous forme d'infiltrats lymphoïdes diffus (Laslie *et al*, 2001).

Il y a lieu de distinguer les organes lymphoïdes primaires ; qui servent à la constitution et la maturation des cellules immunitaires et les organes lymphatiques secondaires où les cellules immunitaires sont mises en contacts avec les substances étrangères (figure1).

Les organes suivants font parties du système lymphatique primaire :

- ❖ La moelle osseuse : siège de l'hématopoïèse et de la différenciation des lymphocytes B.
- ❖ Le thymus : où les lymphocytes T immatures issus de la moelle osseuse se différencient en lymphocytes matures.

Aux nombres des organes lymphatiques secondaires il y a :

- ❖ Les organes lympho-réticulaires :

La rate : c'est l'organe lymphoïde le plus volumineux ; caractérisé par la présence importante des macrophages phagocytaires.

Les ganglions lymphatiques.

- ❖ Les organes lympho-épithéliaux.
- ❖ Les tissus lymphatiques associés à la muqueuse (MALT).

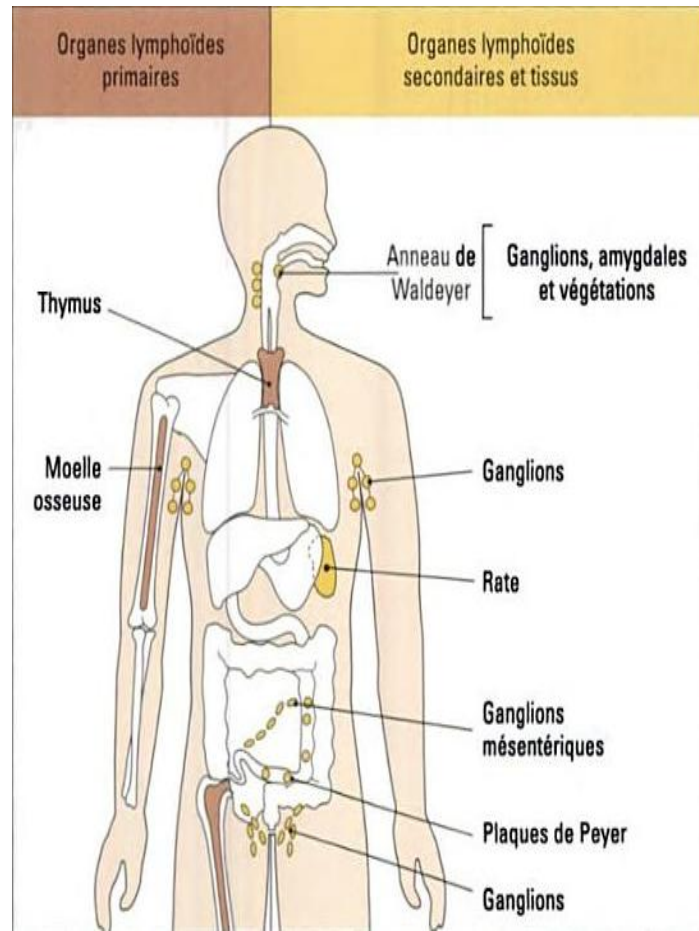


Figure 1 : les principaux organes et tissus lymphoïdes (David et al ; 2005)

I.1.2. Le ganglion lymphatique :

Le rôle des ganglions lymphatique est de filtrer la lymphe, et de maintenir le stock de cellule B et d'héberger des cellules T (*Abraham et al, 2006*).

Ce sont des formations nodulaires de 0.5 de diamètre disposé le long des vaisseaux Lymphatiques (figure 3) (*Charles et al, 2009*) il est entouré d'une capsule et possède un parenchyme divisé en deux partie ; le cortex et la médullaire. (Figure 2)

La capsule est constituée d'un tissu conjonctif dense irrégulier entouré par un tissu adipeux, sur la face convexe du ganglion ; elle est perforée par de nombreux vaisseaux lymphatiques afférents.

* Le cortex : est formé de deux zones :

- *Cortex externe* : contient des follicules lymphoïdes riches en cellules B et les sinus lymphatiques.

Un follicule lymphoïde est constitué d'un centre germinatif contenant essentiellement des cellules B en prolifération ou lymphoblastes, des cellules folliculaires dendritiques et des macrophages. Les centres germinatifs se développent en réponse à une stimulation antigénique.

Un follicule lymphoïde primaire est dépourvu de centre germinatif ; un follicule lymphoïde secondaire possède un centre germinatif.

- *Cortex interne* : est une zone paracorticale dans laquelle on trouve principalement des cellules T auxiliaires CD4+ (*Abraham et al, 2006*).

* La médullaire : c'est la partie centrale du ganglion ; formée de cordon de lymphocytes séparés par les sinus lymphatique qui se drainent dans le canal lymphatique efférents rejoignant la circulation sanguins générale. (*Charles et al, 2009*).

A la présence d'un lymphome ; le ganglion sera prendre autre morphologie :

- Architecteur diffus : représentée par la destruction de la morphologie normale avec une effraction de la capsule.
- Architecteur folliculaire : représentés par des structures nodulaires disséminées.

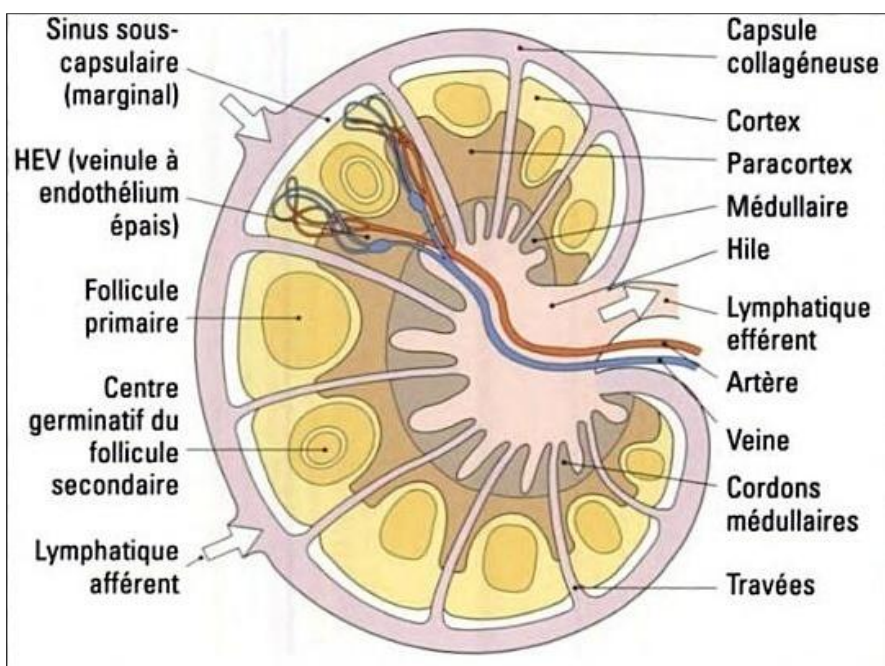
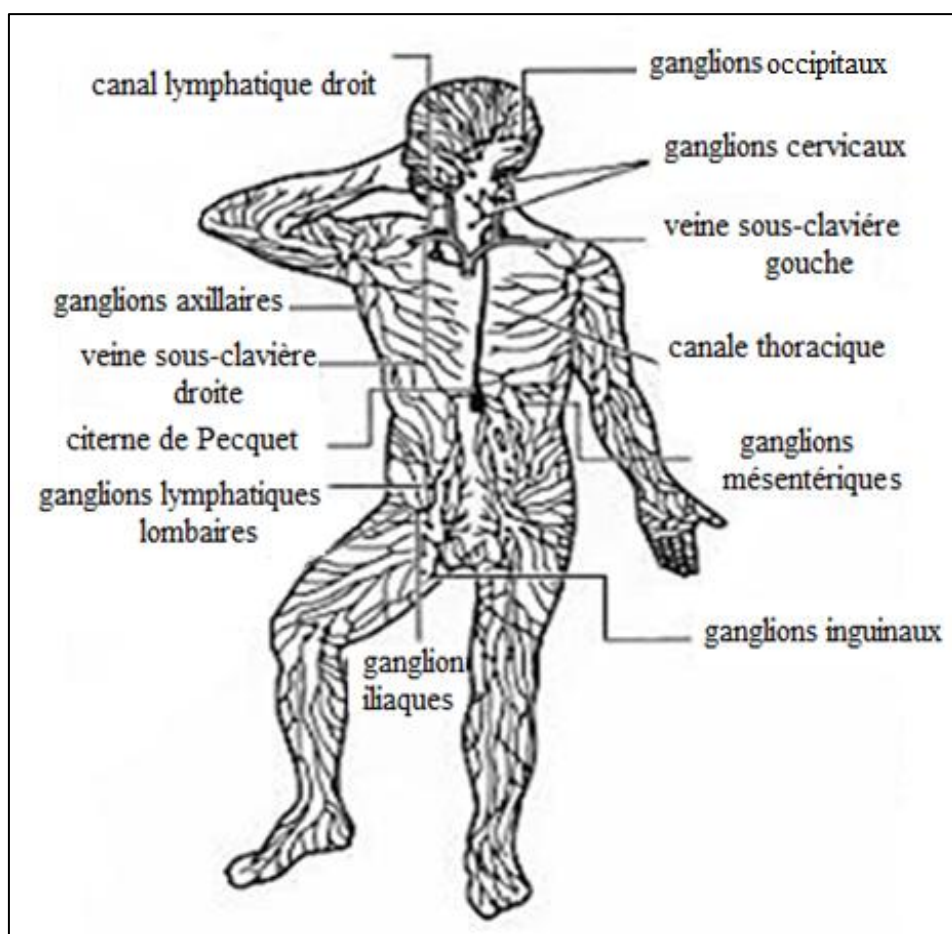


Figure 2 : La structure d'un ganglion lymphatique (David et al ; 2005)

Le ganglion normal comporte une zone corticale qui contient les follicules lymphoïdes et une zone para-corticale et médullaire riche en vaisseaux, il existe un sinus marginale sous-capsulaires dans lequel s'abouchent les canaux lymphatiques afférents et des sinus Inter-folliculaire et médullaire.

On distingue les follicules primaires et les follicules secondaires qui comportent un centre germinatif.



Figures 3 : Localisation des principaux ganglions lymphatiques (Christine et al ; 2001)

Dans l'ensemble de l'organisme, il existe plusieurs centaines de ganglions lymphatique, et la lymphe travers plusieurs ganglions qui sont regroupés à certains points stratégiques et constituent un réseau profond dans l'abdomen, le thorax et le cou, et un réseau superficiels inguinal, axillaire, occipital et cervical.

I.1.3. La différenciation des cellules B normales :

Le développement des cellules B englobe un ensemble des étapes qui commencent dans les organes lymphoïdes primaires, et suivie par une maturation fonctionnel dans les organes lymphoïde secondaires.

Toutes les cellules sanguines proviennent des cellules souches hématopoïétiques (CSH) qui possèdent, à la fois, une capacité d'auto-renouvellement et de multipotence. (*Åse et al ; 2008*)

Les lymphocytes B se différencient à partir des cellules souches immatures de la moelle osseuses. Très tôt le réarrangement des gènes pour les immunoglobulines ; à ce stade précoce, ou la différenciation est indépendante des antigènes, les cellules B sont grandes et se développent rapidement, elles sont appelées lymphoblastes ; ensuite ils se différencient en petites cellules, immatures et matures appelées lymphocytes B. Au cours de cette étape la CSH engagée dans la lignée B passe par les stades suivants. (*FRIJA ; 1996*).

Stade pro-B : la cellule pro-B, présente l'antigène CD34 et commence à exprimer le CD 10 et le CD19 (*FRIJA ; 1996*). les segments variables Vh-DJh se réarrangent. Lorsque le réarrangement est productif, la chaîne lourde complète μ peut être synthétisée dans la cellule pro-B tardive. Les chaînes légères sont encore en configuration, c'est-à-dire non réarrangées (*Anne ,2012*). (Figure 4-A)

Stade pré-B : Au stade pré-B précoce, une phase de prolifération est enclenchée et l'exclusion allélique se met en place (un seul locus réarrangé sera exprimé dans une cellule et sa descendance) l'étape suivante comprend 4 à 6 cycles de divisions cellulaires associées à une réduction progressive en taille de la cellule, qui commence à réarranger les segments de gène de la chaîne légère. C'est à ce stade que la spécificité antigénique du BCR récemment réarrangé (*Anne ,2012*) ; Il y a également une perte de l'antigène CD34 et apparition du CD20 (*FRIJA ; 1999*). (Figure4-B)

Cellule B immature : l'expression en surface d'un BCR complet est nécessaire à la survie à ce stade ; cette cellule exprimant une immunoglobuline complète en surface subit à cette étape la sélection négative (éliminer les BCR qui reconnaissent les antigènes de soi) (Anne, 2012). (Figure4-C)

Cellule B matures : Ces cellules expriment à la membrane de faibles taux d'IgM et d'IgD; c'est à ce stade que les lymphocytes B quittent le tissu hématopoïétique, passent dans la circulation sanguine et se répartissent dans les zones T indépendantes des organes lymphoïdes secondaires. (Figure4-D)

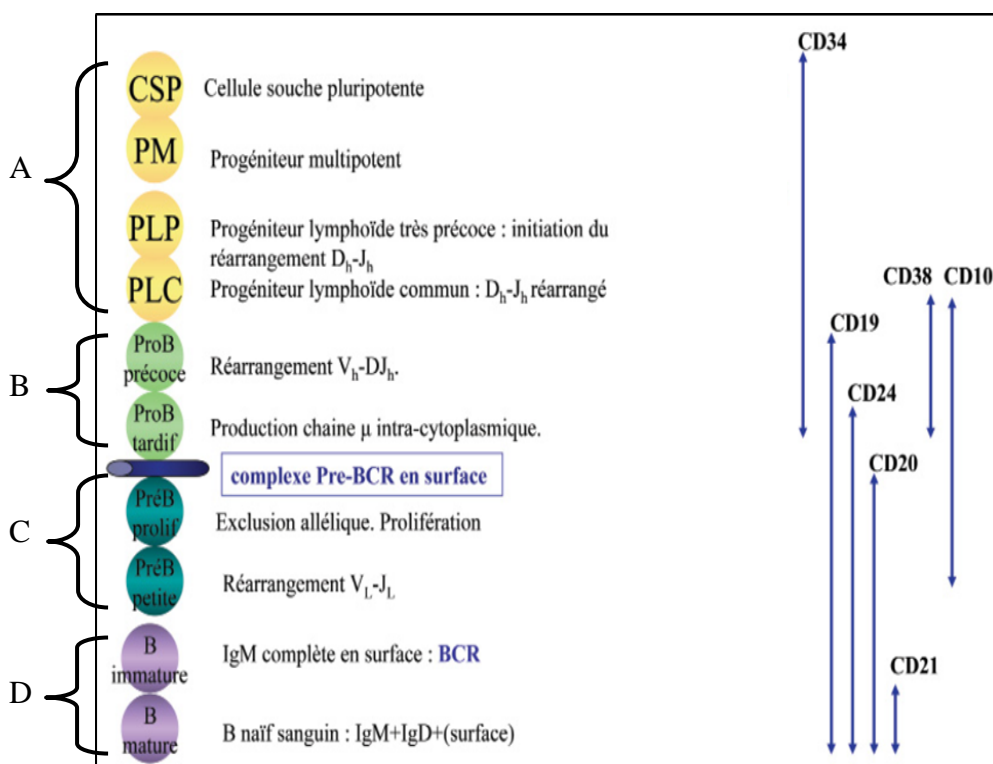


Figure 4 : Les différents stades de la lymphopoïèse B en fonction du réarrangement des gènes et des marqueurs de différenciation (Anne, 2012).

La maturation ultérieure se produit principalement dans les ganglions lymphatiques. Sous l'effet d'un antigène, les lymphocytes augmentent de taille ; ils s'appellent monoblastes / centroblastes et se trouvent dans le centre germinatif des ganglions lymphatiques.

Les petites lymphocytes non proliférant appelés centrocytes, se forment dans le centre germinatif ainsi que des plasmocytes produisant des IgG qui s'accumulent dans la médullaire ; quelques centrocytes migrent pour former une zone marginale autour des follicules activés et restent là comme des cellules B mémoire (Figure 5)

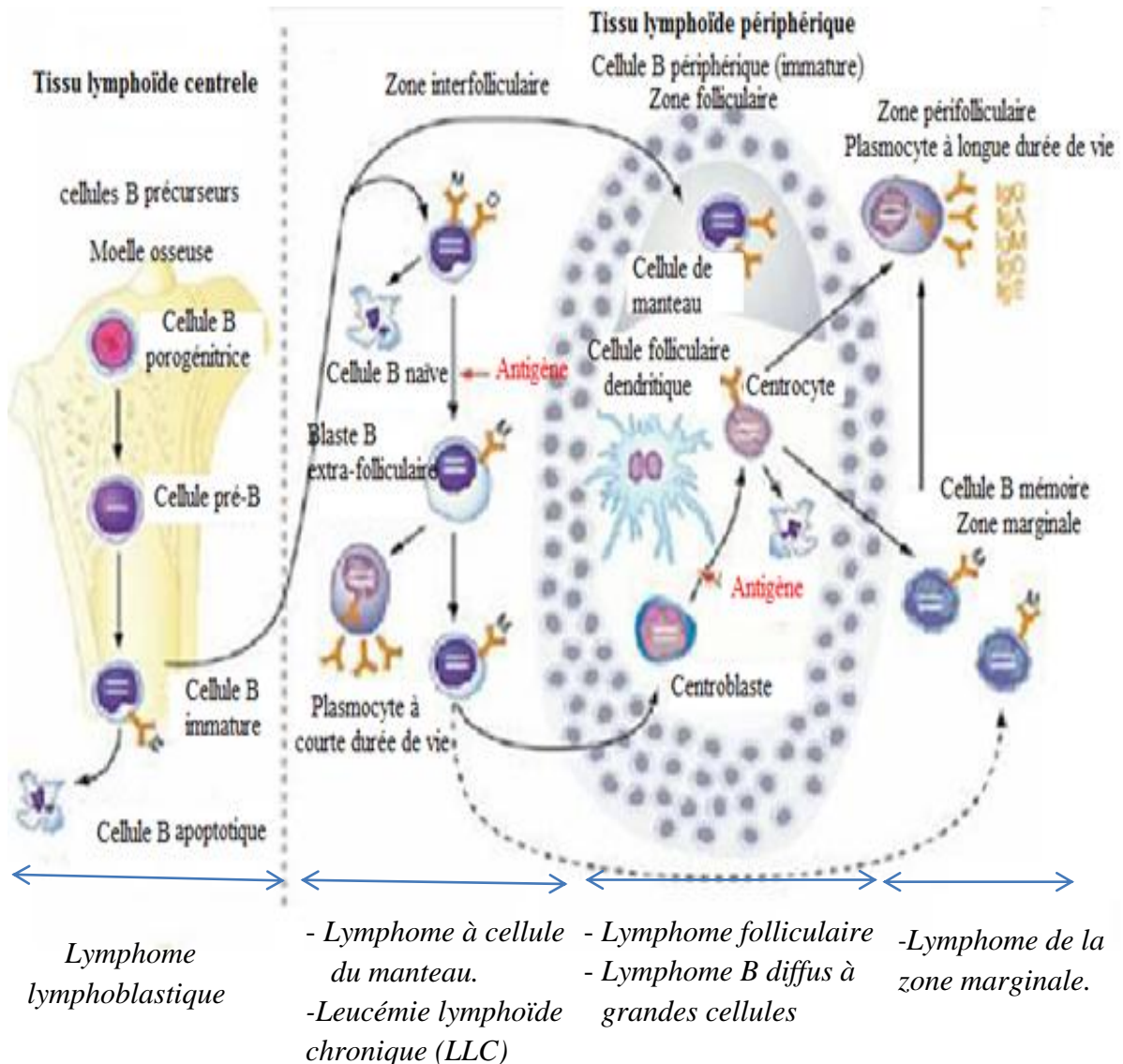


Figure 5 : La différenciation des cellules B en relations avec les principaux lymphomes (Sawadago et al,OMS 2008).

Le développement d'un lymphome : La différenciation des lymphocytes B est constituée de différents stades de maturation. Parallèlement à cette différenciation des lymphocytes B normaux correspondent différents sous-groupes de lymphomes B: (figure 5)

- Les lymphomes B lymphoblastiques s'apparentant aux lymphocytes B précurseurs de la moelle osseuse.
- Le lymphome à cellules du manteau et le Leucémie lymphoïde chronique aux lymphocytes B naïfs,
- Le lymphome B diffus à grandes cellules aux centroblastes,
- Les lymphomes folliculaires aux centrocytes et centroblastes,

- Les lymphomes de la zone marginale aux lymphocytes B mémoire (*Swerdlow et al. 2008*)

I.2. La classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) des lymphomes

Les classifications anciennes distinguant les lymphosarcomes, les lymphoreticulosarcomes n'ont pas résisté aux progrès dans la physio pathogénie du système lymphoïde

Plusieurs classifications ont été appliquées aux lymphomes:

- Rappaport (1966) : nodulaire et diffuse
- Lukes-Collins(1974)
- Lennert(Kiel 1974) : morphologiquement des types cellulaires
- WF (*Working Formulation*) 1982

Après celles-ci, une classification Américano-Européenne Révisée des Lymphomes (*REAL*) a été à la base de la classification internationale de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) qui représente le premier consensus mondial en matière de classification des hémopathies malignes. (*Delsol et al ;2008*).

Cette classification associant les caractéristique morphologique, cytogénétiques ; l'immunophénotypage et les aspects clinique a permet d'identifier des nouvelle entités anatomo-clinique auparavant sous-évaluées.

Elle est devenue la référence pour les pathologistes et les cliniciens,cette classification répartit les lymphomes sur la base des origines cellulaires qui peuvent être B, T ou NK, mais aussi en fonction de leur stade de développement, qu'il s'agisse de précurseurs ou de cellules plus mature, dites « périphérique ». (*François et al ; 2011*)

De nombreuse entité sont définies dans la dernière classification OMS, le principe de cette classification en entités est la base fondamentales da la prise en charge des patients (*Balardy et al ; 2011*).

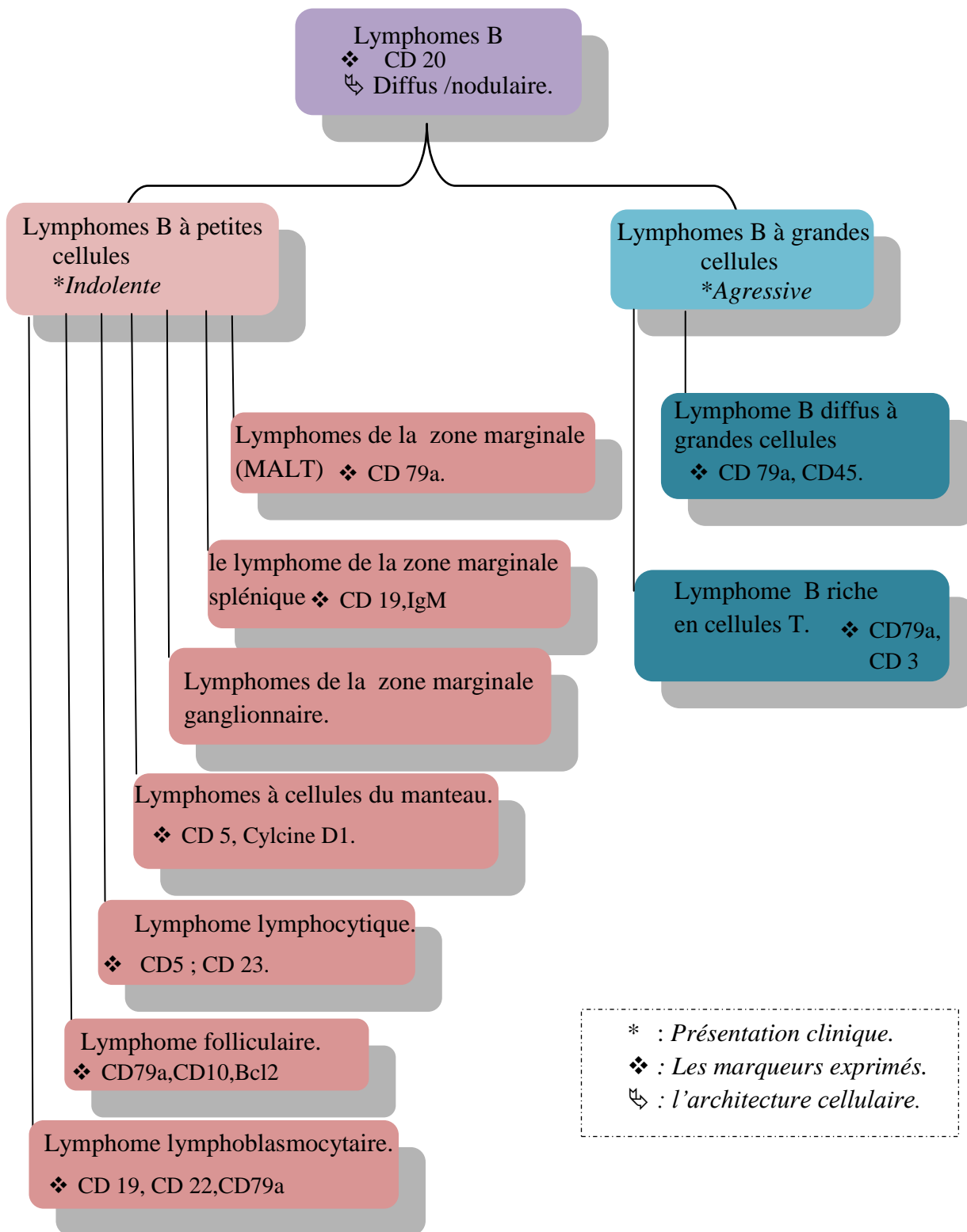


Figure 6 : Arbre récapitulative des principaux lymphomes à cellules B (à partir des données bibliographiques)

Sur le plan histologique on distinct lymphomes B à petites cellules et

à grandes cellules ; chaque groupe comporte plusieurs entités diverses.

I.3. les lymphomes à cellules B : forment un groupe hétérogène de cancers issus de la transformation néoplasique des lymphocytes ; de nombreuses entités sont identifiées sur la base de données clinique, histologique et génétique. Ils comprennent :

I.3.1. Les lymphomes B à petites cellules :

Ce sont des néoplasies dérivés des lymphocytes B ; développés à partir des différents compartiments des follicules lymphoïdes. Ils comprennent les lymphomes folliculaires, les lymphomes à cellules du manteau, les lymphomes de la zone marginale, les lymphomes lymphocytiques et les lymphomes lymphoplasmocytaires (*Jaffe et al;2001*), en dehors des lymphomes à cellules de manteau , ce sont des lymphomes indolents, lentement évolutifs (*Colombat et al ;2009*).

I.3.1.1 Lymphome lymphocytique / Leucémie lymphoïde chronique (LLC) :

Ces proliférations sont principalement constituées des lymphocytes de morphologie banale, les noyaux présentent un nucléole en position centrale, chromatines dense ; Le cytoplasme est réduit et peu basophile. (*Russano et al;2009*).

L'immunophénotype de LLC est caractéristique : positivité du : CD19, CD20, CD23 et CD5 (*Evard et al ; 2009*).

I.3.1.2 Lymphomes de la zone marginale (LZM):

Ces lymphomes sont constitués de cellules de petite taille dont l'aspect cytologique peut varier (*centrocyte-like* , *plasmocytaire*, *monocytoïde*) ; elles infiltrant les structures épithéliales réalisant des lésions Lympho-épithéliales.

Les LZM regroupent 3 entités, définies par le site initial d'envahissement néoplasique (*Iecuit et al ; 2007*) :

- ✦ le LZM extra-ganglionnaire développé à partir du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT).
- ✦ le LZM splénique.
- ✦ le LZM ganglionnaire.

* Le lymphome de type MALT est une entité anatomoclinique distincte ; ce lymphome a été décrit dans différents sites anatomiques tels que l'estomac, la peau, la thyroïde, les glandes salivaires, les seins et l'arbre broncho-pulmonaire (*Amouri et al ; 2009*).

La localisation gastrique est la plus fréquente ; elle se développe après l'acquisition d'un tissu lymphoïde de type MALT qui pourrait être secondaire à une stimulation antigénique, Pour les localisations gastriques, l'*Helicobacter pylori* joue ce rôle ; Cette bactérie est adaptée à la muqueuse gastrique en particulier grâce à la production d'une grande quantité d'uréase qui, en neutralisant l'acidité gastrique, permet sa survie (*Lehours et al ; 2006*).

La transformation en lymphome à grandes cellules, possible, semble être un événement rare et tardif (*Amouri et al ; 2009*).

Trois faits morphologiques caractérisent ces lymphomes :

- Une prolifération lymphomateuses constituée de cellule centrocytiques de taille petite à moyenne, avec des noyaux irréguliers.
- Des lésions « lympho-épithéliales » responsables d'une destruction des structures épithéliales.
- Les présences de follicules lymphoïdes hyperplasiques souvent colonisés par les cellules lymphomateuses.

Les cellules lymphomateuses expriment les antigènes CD19, CD20, CD79a, en revanche, les antigènes CD5, CD10, CD23 sont absents, ce phénotype permet de différencier ces tumeurs des autres lymphomes B à petites cellules (*Russano et al;2009*).

* le LYM splénique : sont dans 90% des cas leucémiques, exprimant CD19, CD20, IgM de surface, mais n'exprimant pas CD5, CD23, CD10 et exprimant peu les IgD (*Arcaini et al ;2006*).

* LYM ganglionnaire : sont les plus rares ; Sur le plan morphologique, la présentation est très hétérogène, comportant un mélange des différents types cellulaires, Les caractéristiques immunophénotypiques :CD5-/+ , CD23-, CD43- (*Pascale et al ;2007*).

I.3.1. 3 Lymphome à cellule du manteau(LCM):

Il se développant à partir d'une zone entourant les centres germinatifs , la zone du manteau, et co-exprimant un antigène associé aux cellules T, le CD5 (*Delphine et al ; 2010*) ;le cycline D1 est un marqueur clés du diagnostic de ce lymphome.

Le LCM représente une entité particulière, avec une présentation clinique initiale souvent indolente, mais un pronostic à court terme sombre en raison d'une résistance aux chimiothérapies conventionnelles et de rechutes fréquentes. Ils se situent donc à l'interface entre lymphomes agressifs et indolents (*Steven et al ;2011*).

I.3.1.4 Lymphome folliculaire(LF) :

L'architecture nodulaire de ces lymphomes est due à la présence de réseaux de cellules folliculaire dendritiques comparables aux réseaux des follicules lymphoïdes normaux.

En cours d'évolution, des zones d'aspect diffus peuvent apparaître ; les follicules lymphomateux sont constitués par une population prédominante de centrocytes identifiables à leurs noyau encoché et anguleux associés à quelques centroblastes à noyaux rond, nucléolé, et à cytoplasme basophile.

Selon la proportion de centrocytes et de centroblastes ,on distingue des lymphomes folliculaire :

- Grade 1(0-5 centroblastes /grand champ:×40).
- Grade 2 (6-15 centroblastes/gc).

- Grade 3 (>15 centroblastes /gc).

-

Les lymphomes folliculaires présentent plusieurs antigènes B (CD19,CD20,CD22 CD79a), contrairement aux lymphomes à cellules de manteau ,ils expriment l'antigène CD10 et sont dépourvus de l'antigène CD5 (*Russano et al;2009*).

Les méthodes cytogénétiques identifient, dans la majorité des cas, une translocation qui est responsable d'une expression constitutive de la protéine anti-apoptotique Bcl2 (*Jehan et al ; 2007*)

I.3.1. 5Lymphome B lymphoblastocyttaire:

Ces tumeurs réalisent des proliférations diffuses faites de lymphocytes de morphologie banale ; avec différenciation plasmocytaire ; les cellules expriment plusieurs antigènes B (CD20, CD19, CD22, CD79a) mais contrairement aux LLC sont dépourvues de l'antigène CD5 (*Russano et al;2009*).

I.3.2. Les Lymphomes B grandes cellules:

I.3.2.1 Lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB) :

Ces lymphomes surviennent soit *de novo* soit par transformation d'un lymphome à petites cellules (LF, LZM, LLC), Ils se présentent cliniquement comme des lymphomes agressifs, sous forme d'une masse ganglionnaire ou extra-ganglionnaire de croissance rapide.

Le LDGCB est la plus fréquente malignité lymphoïde ; correspond à un groupe de lymphoïdes malignes composé de grandes cellules avec noyaux fortement nucléolé ; cytoplasme basophile et un taux de prolifération généralement élevé (*Pascale et al ; 2007*), Il est définis principalement par deux critères histopathologiques : l'architecture diffuse de la population tumorale et la grande taille des cellules tumorales qui sont des cellules lymphoïdes matures (*Lebien et al ; 2008*).

Les études morphologiques, biologiques et cliniques ont permis la subdivision de LDGCB en sous-groupes moléculaires et immunologiques.

Cependant, un grand nombre de cas restent biologiquement hétérogène, pour lequel il n'existe pas de critères clairs et acceptés pour sous-classification: ce sont collectivement appelés LDGCB sans autre spécification (NOS : Not Otherwise Specified) (*Maurizio et al ;*

2007) ; Il existe dans ce groupe des variantes morphologiques : centroblastique, immunoblastique, anaplasique et d'autre plus rare (*Swerdlow et al ; 2008*).

I.3.2.2 Lymphome B riche en cellules T (LBRCT) :

Ces lymphomes caractérisés par la dispersion des rare cellules B tumorales au sein d'un infiltrat réactionnel important de cellules T (*Olivier et al ; 2003*)

Ce type de lymphome généralement agressif ; le phénotype des cellules est comparable à celui des LBDGC, avec une expression habituelle de l'EMA (*Delsol ; 2008*).

Il existe de nombreuses variétés différentes deLDGCB, isolées dans la classification OMS 2008 sous forme d'entités anatomocliniques ou de sous-types spécifiques ; Permet lesquelles; les lymphomes a grandes cellules CD246 + ; Il y a également des entités liées à la localisation telles que les lymphomes primitifs du médiastin, les lymphomes intra-vasculaire, et les lymphomes du système nerveux central (*Thierry et al ; 2011*).

I.4. Épidémiologie :

Selon l'estimation fournie en 2008 par l'Organisation Mondiale de la Santé, et l'Agence Internationale pour la recherche contre le Cancer (IARC), les lymphomes non hodgkiniens (LNH) représentent la 12^{ème} cause de cancer chez l'homme et chez la femme, de l'ordre de 200 000 décès dans le monde peuvent être attribués chaque année aux lymphomes. Plus de 79% de ces nouveaux cas sont des LNH de type B, dont le sous-groupe le plus fréquent est le lymphome B diffus à grande cellules.

Il est important de souligner que les LNH représentent la seule hémopathie maligne dont l'incidence augmente significativement depuis les années 70, et ce d'environ 5 % par an (*Collignon et al ;2012*)

Sur la base des données du Groupe international d'étude NHL (Projet de classification lymphome non-hodgkinien 1997) et la quatrième édition de la classification de l'OMS des tumeurs des tissus hématopoïétiques et lymphoïdes, LMNH-B représente environ 31% de tous LNH dans les pays occidentaux et 37% des tumeurs des cellules B dans le monde entier (*Maurizio et al ;2012*).

I.5.Facteurs de risques :

Pour la plus parts des lymphomes non hodgkinien la cause est inconnue, bien que des facteurs génétiques, environnementaux et infectieux aient été impliqués (*Delsol ;2010*).

↳ De nombreuses anomalies moléculaires ont été décrites dans les lymphomes :

*Ces dernières années, il est apparu que les lymphomes de type MALT sont fréquemment associés à des anomalies chromosomiques de type translocations. Parmi les plus fréquentes on peut citer : t (11/18)(q21/q21)(API2/MALT1) ; t(1/14) (q22/q32) (IgH/BCL10).

*Les lymphomes folliculaires se caractérisent dans 70 % à 90 % des cas par la translocation chromosomique t(14;18) (q32;q21), qui place le proto-oncogène BCL-2 situé en 18q21 en 14q32 sous le contrôle du gène de la chaîne lourde des immunoglobulines, Ceci entraîne une surexpression de la protéine BCL-2(*Hermine et al ;2008*).

Une translocation réciproque entre les chromosomes 11 et 14, est l'événement cytogénétique primaire de la physiopathologie de LCM, cette translocation est présente dans presque tous les cas de LCM ; la translocation t(11 /14)(q13 /q32) dérégulant la cycline D1(*Campo et al ; 1999*)

Selon *Bea et al(2005)* Les translocations *IgH/bcl-2* sont observées dans environ 10 à 20 % des DLBCL.

↳ Risques environnementaux : les produits chimiques agricoles ont été associés à un risque accru de lymphomes non hodgkinien, les associations les plus fortes impliquant des herbicides. (Goldman *et al* ; 2012).

↳ Plusieurs lymphomes sont associés à des agents infectieux:

Le virus le plus étroitement associé aux proliférations lymphoïdes est le virus Epstein Barr. (Delsol ; 2010) ; ainsi, les lymphomes MALT gastriques sont fréquemment associés à une infection par *Helicobacter pylori* ; Pour d'autres localisations, d'autres agents pathogènes ont été suggérés tels que *Chlamydia psittaci*, pour les lymphomes MALT oculaires, *Campylobacter jejunii* pour ceux du tube digestif et *Borrelia burgdorferi* pour les lymphomes MALT cutanés (Delsol ; 2010).

Les hépatites chroniques à virus C peuvent se compliquer de cryoglobulinémie et de lymphomes B de faible malignité. Une association avec des lymphomes primitifs du foie a également été suggérée (Sawadogo *et al* ; 2002)

I.6. Signes clinique :

Parallèlement à l'hétérogénéité biologique des lymphomes, on observe des présentations cliniques très différentes qui peuvent rendre le diagnostic difficile (*Evans et al ;2003*).

Le bilan biologique vise à chercher les signes inflammatoires, et les autres signes d'évolutivité de la maladie.

Les signes inflammatoires sont représentés par l'accélération de la vitesse de sédimentation, l'hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles, et l'augmentation du taux des plaquette tandis que les signes biologiques d'évolutivité comprennent l'anémie, l'augmentation du taux de LDH sérique et de la B2-microglobuline

Les adénopathies multiples représentent le principal signe fonctionnel toutes les chaînes ganglionnaires peuvent être concernées. les adénopathies ont une consistance ferme. elles sont de taille variable et persistante sur plus d'un mois ; elles ne sont ni douloureuses ni inflammatoires (*Drouet et al ; 2010*)

D'autres signes ne sont pas spécifiques, mais il est préférable de les citer comme :

- Altération de l'état général avec l'apparition d'une fièvre inexplicée supérieure à 38,5 °c sans cause infectieuse.
- Perte de poids inexplicés.
- Douleurs abdominales .

I.7.Stratégies thérapeutiques :

Le but de traitement est d'obtenir une rémission complète, d'empêcher les rechutes et d'obtenir un taux de survie élevé sans événements.

a) La chimiothérapie

Elle est aujourd'hui l'arme thérapeutique essentielle des LNH grâce à une intensification des chimiothérapies, les taux de survie ont été améliorés au cours de ces dernières années. Cet accroissement d'efficacité s'accompagne cependant d'un accroissement de leur toxicité. (Paccalin *et al*, 2002).

Les principaux agents sont:

- Les agents alkylants: Cyclophosphamide (Endoxan®).
- Les antimétoproliférateurs: Méthotrexate (Méthotrexate®).
- Les agents scindants: Adriamycine (Adriablastine®), Bléomycine (Bléomycine*),
- Les agents de fuseau: Vincristine (Oncovin®).
- Les corticoïdes: Dexaméthasone.
- Les antipyrimidiques : Cytarabine (Aracytine®).

Anticorps monoclonal anti-CD20 : Rituximab

Le rituximab est un anticorps chimérique murin humanisé contre l'antigène CD 20 présent à la surface des lymphocytes B ; Comportant d'une part les régions constantes d'une IgG1 humaine et d'autre part les régions variables des chaînes légères et lourdes d'origine murine ; Il est actif contre les cellules malignes présentant l'antigène CD 20. (David *et al* ; 2012).

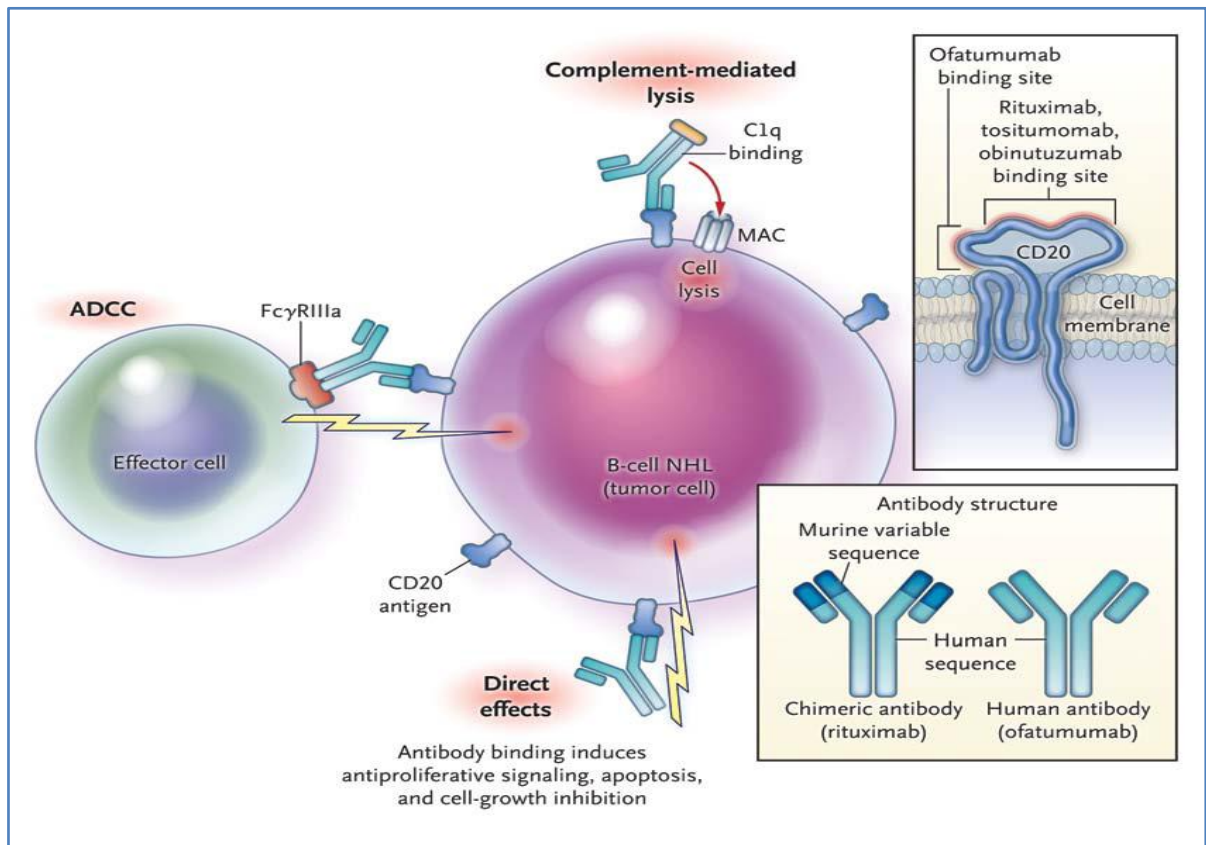


Figure 7 : Mécanismes d'action du Rituximab(anti-CD20 (David et al ; 2012)

L'anticorps anti -CD20 se lie à la molécule CD20 sur la surface de la cellule maligne B dans le lymphome non hodgkinien (LNH), conduisant à la mort cellulaire. Trois mécanismes d'action des anticorps anti-CD20 ont été proposés.

➤ *Cytotoxicité dépendante du complément : le premier composant du complément (C1) se lie à la portion Fc de la molécule anti-CD20, résultant l'activation de la cascade du complément et de la lyse des cellules par la formation de complexes d'attaque membranaire (MAC).*

➤ *Cytotoxicité dépendante des anticorps à médiation cellulaire : les cellules effectrices, telles que les Naturel Killer (NK) macrophages, se lient à la portion Fc de la molécule anti-CD20 par des récepteurs Fcγ ; puis les cellules effectrices relâchent des molécules effectrices telles que la perforine , qui provoquent la lyse des cellules .*

➤ *Cytotoxicité directe : l'anticorps anti-CD20 induit signalisation internes au sein de la cellule tumorale, entraînant des effets antiprolifératifs ou la mort cellulaire, qui peuvent impliquer l'apoptose.*

b) La Radio-immunothérapie (RIT) :

Le principe de la RIT repose sur l'administration d'anticorps monoclonaux marqués par un radionucléide dans le but de délivrer in situ des doses de radiation ciblées directement sur les cellules tumorales, en ne ciblant que les cellules expriment l'antigène, on minimise la toxicité de traitement sur les cellules saines.

L'efficacité de la RIT repose, d'une part sur les propriétés de l'anticorps (spécificité, affinité, immunoréactivité) et du radionucléide de marqueur (type d'émission, période physique, parcours) et d'autre part, sur les propriétés de l'antigène (localisation, densité, expression).

La réponse tumorale dépendra de nombreux facteurs telle que la dose cumulée délivrée et le débit de dose alors que la radiothérapie externe à dose fractionnée délivre par intermittence un rayonnement à des débits de doses relativement élevées, la dose d'irradiation en RIT est délivrées en continu à un débit diminuant de façon exponentielle au fur et à mesure de la décroissance du radionucléide fixé à l'anticorps ; la RIT permet d'irradier sélectivement des cibles tumorales de petites taille peu ou pas accessible à une irradiation externe .

L'ibritumomab tiuxétan est le première anticorps utilisé en RIT chez les patients atteints d'un LNH à cellules B CD 20 positif ; il est constitué d'une anticorps anti- CD20
« L'ibritumomab », lequel est fixé à un chélateur « tiuxétan », capable de complexer l' ^{90}Y , radionucléide émetteur de rayonnement (*Rizzo ; 2008*).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abraham L, et al. Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique. 2ed. 54,2006.
- Amouri, L. Chtourou, Lymphome de MALT du rectum : à propos d'un cas traité par irradiation .Cancer/Radiothérapie ; 2009 ; 13 :61–64.
- Anne Plonquet, Differentiation lymphocytaire B normale, hématologie :2012.452,27-35.
- Anthony J.Griffiths F, Introduction à l'analyse génétique ; 3ed ; De Boeck ; 2002; 538
- Arcaini L, Paulli M, Boveri E. Splenic and nodal marginal zone B-cell lymphomas are indolent disorders at high hepatitis C virus seroprevalence with distinct presenting features but similar morphologic and phenotypic profiles. Cancer 2004; 100: 17-15.
- Åse E, Soheil N, Heidi K .Regulation of B cell proliferation and differentiation by retinoic acid : Immunology : 2009.21. 36–41
- Barista I, Romaguera JE, Cabanillas F. Mantle-cell lymphoma. Lancet Oncol. 2001;2:141-148.
- Bea S, Zettl A, Wright G, et al. Lymphoma/leukemia molecular profiling Project . Diffuse large B-cell lymphoma subgroups have distinct genetic profiles that influence tumor biology and improve gene-expression-based survival prediction. Blood 2005 ; 106:3183-90
- Benattar G. Flandrin Nouvelles approches diagnostiques des lymphomes malins ; Ann Biol Clin 2003, 61 : 513.
- Martinelli F, Conconi A, Capella C, et al. Lymphomes de la zone marginale ; Hématologie 2007 ; 13 (5) : 324-7.
- BIDRI M. M. AROCK. Différenciation des cellules hématopoïétiques : intervention des cytokines et expression des marqueurs membranaires : revue française d'allergologie et d'immunologie clinique, 1996, 36 (8), 859-878.
- . BoslyD. Filzr N.Lymphomes folliculaires : Encyclopédie Médico- Chirurgicale2004, 13 :16-29
- Campo E, Raffeld M, Jaffe ES. Mantle-cell lymphoma. Semin Hematol 1999 ; 36 : 115-27.
- Charles A, Jameway et al. Immunobiologie. 3 ed.de boeck, 103,2009.
- Christine looker. le corps humain étude, structure et fonction. ; 1 ed. MASSON, 241, 2001.

- Collignon, V. Duchenet, Det al. diffus large b cell lymphoma. *Pathobiology Annual* 2007;7:231–55.
- Colombat , S. Lissandre , C. Foussard, Lymphomes malins non hodgkiniens à petites cellules :facteurs pronostiques et traitements ; *Médecine Nucléaire* 2009, 33 473–475.
- David G. Maloney, M.D., Ph.D. Anti-CD20 Antibody Therapy for B-Cell Lymphomas, *clinical therapeutics* : 2012;366:2008-16.
- David male et al. *immunologie aide-mémoire illustré* .3 ed. Lyon: IARC Press;2005.
- Delphine Rolland, Julien Lazarovici,Catherine Thieblemont. Biologie et traitements ciblés des lymphomes à cellules du manteau, *Hématologie* 2010 ; 16 (5) : 363-71
- Delsol G. classification OMS 2008 des lymphomes : *annale de pathologie* ; 2008, 28.S20-S24.
- Delsol G. Les anomalies moléculaires dans les lymphomes ,*bull Cancer*: 2010 ;97, 11,1347-63.
- Diebold, j. Audouin, . molina, les lymphomes d'origine B revue française des laboratoires, 1998, 280 ,342-8.
- Doyen,M. Delos,L. Michaux, A. Bosly.Lymphomes folliculaires : *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*2004, 13 :16-29.
- Drouet F, X. Cahub, Y. Pointreuc, F. Denisd, M.-A. Mahéa et all. Lymphomes malins non hodgkiniens. *Cancer /radiothérapie*. 2010,210 ;229. 24-28.
- Evans, L. S. et B. W. Hancock .Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet* 2003 ; 362: 139-46.
- Eve Roman et Alexandra G Smith. Epidemiology of lymphomas (2011) *Histopathology* 58, 4–14.
- Evrard,P. Gaussem,D. Helley,L. Darnige. Facteurs pronostiques de la leucémie lymphoïde chronique : apport des marqueurs biologiques récents : *Ann Biol Clin* 2005 ; 63 (6) : 589-97.
- Flowers, C. R., Sinha, R., and Vose, J. M. (2010). Improving Outcomes for Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. Available at:
- François morère, denis S et al. *Thérapeutique du cancer*. 2 ed ;2011 ;47.
- frija J. new approche to classifying no Hodgkin's lymphomas : 1996, 16 :278-95 .
- Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004 ; 103 :275-82.

- Harris N.L., Jaffe E.S., Stein H., Banks P.M., Chan J.K.C., Cleary M.L , et al. A Revised European-American classification of lymphoid neoplasms: A proposal from the International Lymphoma Study Group *Blood* 1994 ; 84 : 1361
- Hermine O., Haioun C., Dagay M.-F., Briere J., Lavignac C., Fillet G., et al. Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma *Blood* 1996 ; 87 (1) : 265-272.
- Henno, C.-M. Lapière B.V. Nussgens M. Le système vasculaire lymphatique : états des connaissances et implications dermatologiques potentielles : *Annales de dermatologie et de vénéréologie* (2008) 135, 704-709.
- Jacques Diebolda , Thierry Molinaa, Agnès Le Tourneua, Josée Audouina, *Hémopathies malignes : définition et différentes variétés selon la classification de l'OMS 2001 ; anatomie et cytologie pathologiques* : 2008, 398,61-71.
- Jaffe E., Harris N., Stein H., Vardiman J. *Tumours of haematopoietic and Lymphoid Tissues* Lyon: IARC Press World Health Organization (WHO) *Classification of Tumours Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*, 2001.(OMS)
- Jehan Dupuis, Corinne Haioun. Lymphomes non hodgkiniens du sujet âgé : lymphome à grandes cellules B et lymphome folliculaire, *Bull Cancer* 2008 ; 95 (Suppl. FMC) : F79-83.
- Leslie P, James L. *Atlas en couleur d'histologie*, 2ème édition. PRA del, 86.2001.
- Lecuit M, Abachin E, Martin A. lymphome de la zone marginale ; *Hématologie*, 2007 13, 324-7.
- LeBien S, Thomas F. B lymphocytes: how they develop and function ; *BLOOD*, 2008, 112,5 ; 1570-1580.
- Lee Goldman, Pierre L.. *Goldman's Cecil Medicine Cancérologie* ; SERT ,2012 .
- Lehours P. , F. Mégraud. Infections à *Helicobacter pylori* et lymphome gastrique du MALT ; *Pathologie infectieuse* : 2005 ; 7 : 97-105.

- Linda S Evans, Barry W Hancock. Non-Hodgkin lymphoma ; 2003; 362: 139–46.
lymphoma: a prognostic model for clinical use. Blood 2006;107:4643–9
- Maurizio Martelli , Andrés J.M. Ferreri , et al. Diffuse large B-cell lymphoma : Crit Rev Oncology, Hematology, 2012,26-37.
- MIDOUN N., AHMED FOUATIH Z et al. Épidémiologie des lymphomes dans le Département d’Oran (Algérie). Revue d’Épidémiologie et de Santé Publique ; Elsevier.2004 :52,1,73.
- Mouhsine A , Jroundi, Chami I. , Boujida N. Apport de l’imagerie dans le lymphome testiculaire2008 ; journal de radiologie. ELSEVIER ; 2008 ,89,10, 1538
- Mueller C , Boix C, KwanW, Daussy, C., Fournier, E., Fridman, W. H., andMolina, T. J. (2007). Critical role of monocytes to support normal B cell and diffuse large B cell lymphoma survival and proliferation. Leukoc. Biol. 82, 567–575.
- Olivier Ramuz, Reda Bouabdallah .Lymphome B riche en cellules T et histiocytes : variante morphologique ou entité anatomo-clinique : hématologie 2004 ; 9 :191-9.
- Pascale Felman . présentation hématologique des lymphomes à cellules B matures (ganglionnaires et extra-ganglionnaires) : hémopathies lymphoïdes d’origine B ; 2006 ,379.
- Paccalin M , L. Lacotte-Thierry, V. Delwail. Traitement du lymphome malin non hodgkinien de haut grade et de stade disséminé du sujet âgé. Elsevier SAS. Rev Méd Interne 2002 ; 23 : 632-7.
- Rizzo-Pdoin N .apport de la rado-immunothérapie au traitement des lymphomes : annale pharmaceutique ; 2008, 66,300-308.
- Robert Patenaude. survivre à la leucémie ; un guide sur les maladies du sang : Québec /amériqur ; 4-2012.
- Russano G, C.Laurant, L.Lamant, G. Delsol, P. Brousset, et al. Classification histopathologique, immunologique, cytogénétique et moléculaire des lymphomes non hodgkiniens. EMC 2009(Elsevier Masson SAS) 13-013-A-20.
- Ruskoné-Fourmestraux A , Lavergne-Slove A , Delmer A. Lymphomes primitifs du tube digestif. EMC-Hématologie, 2005 : 2.259–275.

- Saskia A.M. van de Schans, Liza N et al. Actual prognosis during follow-up for B-cell non-Hodgkin lymphoma survivors in the Nether lands. *Haematologica* : 2013 ; 98 ,4.
- Sawadogo D., Koffi K. G., Apie J., Hien F., Sangaré A Médecine d'Afrique Noire Etude de quelques facteurs pronostics des lymphomes malins nonHodgkiniens non Burkitt en milieu tropical urbain en Côte d'Ivoire ; 2002 - 48 (7), 296-299.
- Steven L,Christelle D. Le lymphome à cellules du manteau. *Hématologie* 2011 ; 17 (5) : 322-30.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2008.(OMS)
- Thierry Jo Molinaa et al. Pathologie moléculaire des lymphomes diffus à grandes cellules B : intérêt diagnostique et pronostique pour l'histopathologiste, anatomie et cytologie pathologiques ; 2011, 428, 57-63.
- Thomas F. Barth,Martin Bentz, Hartmut Döhner, Peter Möller. Molecular Aspects of B-Cell Lymphomas of the Gastrointestinal Tract : *Clinical Lymphoma*2001 ; 2, 1, 57-64.

ANNEXE 1 : Classification des lymphomes selon l'OMS 2008.

Lymphomes B	Lymphome T
<p>Tumeurs développées à partir des précurseurs Lymphoïde B .</p> <p>Lymphome lymphoblastique.</p> <p>Tumeurs développées à partir de cellules B matures.</p> <p>Leucémie Lymphoïde chronique.</p> <p>Leucémie prolymphocytaire.</p> <p>Lymphome splénique de la zone marginale.</p> <p>Leucémie à tricholeucytaire.</p> <p>Lymphome lymphoplasmocytaire.</p> <p>Myélome.</p> <p>Maladies des chaînes lourdes.</p> <p>Plasmocytome solitaire osseux..</p> <p>Lymphome extra-ganglionnaire de la zone marginale du tissu lymphoïde (MALT).</p> <p>lymphome ganglionnaire de la zone marginale.</p> <p>Lymphome folliculaire.</p> <p>Lymphome centrofolliculaire primitivement cutané.</p> <p>Lymphome du manteau.</p> <p>Lymphome B diffus à grandes cellules sans autre spécification :centroblastique ,immunoblastique Anaplasique).</p> <p>Lymphome B riche en cellules T .</p> <p>Lymphome B médiastinal (thymique).</p>	<p>Tumeurs développées à partir des précurseurs Lymphoïdes T.</p> <p>Lymphome lymphoblastique.</p> <p>Tumeurs développées à partir de cellules T et NK matures.</p> <p>Avec présentation le plus souvent leucémique</p> <p>Leucémie prolymphocytaire</p> <p>Leucémie / lymphome agressive NK EBV+</p> <p>Leucémie / lymphome de l'adulte HTLV+.</p> <p>Leucémie à grands lymphocytes granuleux.</p> <p>Lymphoprolifération chronique à cellules NK</p> <p>Avec présentation le plus souvent ganglionnaire</p> <p>Lymphome T périphérique sans autre spécification.</p> <p>Lymphome T angio-immunoblastique.</p> <p>Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK+</p> <p>Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK-</p> <p>Avec présentation le plus souvent extraganglionnaire.</p> <p>Lymphome T /NK extraganglionnaire de type nasal.</p>

<p>Lymphome à grande cellules primitivement cutané.</p> <p>Lymphome à grande cellules du système nerveux central.</p> <p>Lymphome intra vasculaire.</p> <p>Lymphome à grandes cellules associé à un inflammation chronique.</p> <p>Granulomateuse lymphotoïde.</p> <p>Lymphome à grandes cellules ALK+.</p> <p>Lymphome plasmoblastique.</p> <p>Lymphome primitif des séreuses.</p> <p>Lymphome HHV8+ associé à la maladie de Castleman multicentrique.</p> <p>Lymphome de Burkitt.</p> <p>Lymphome B inclassable de morphologie intermédiaire entre B diffus à grandes cellules et lymphome de Hodgkin classique.</p> <p>Syndrome lymphoprolifératif post-transplantation.</p> <p>Hyperplasie plasmocytaire.</p> <p>Prolifération de type mononucléose infectieuse.</p> <p>Lymphoprolifération polymorphe EBV+.</p> <p>Prolifération monomorphe EBV+ EBV-.</p>	<p>Lymphome T intestinal associé à une entéropathie.</p> <p>Lymphome hépatosplénique.</p> <p>Lymphoprolifération systémique EBV+ de l'enfant.</p> <p>Avec présentation sous-cutané de type panniculite.</p> <p>Lymphoprolifération primitive cutanée CD 30+.</p> <p>Lymphome primitif cutané agressif épidermotrope CD8+.</p> <p>Lymphome primitif cutané à cellules petites /moyennes CD4+.</p> <p>Syndrome lymphoprolifératif post-transplantation</p> <p>Prolifération monomorphe post-transplantation.</p>
--	---

--	--

Annexe 2 : Répartition de la population :

Tableau 1 : Répartition des patients selon l'âge :

Classes d'âge	Nombre de cas	Pourcentage %
[21-31[7	10%
[31-41[9	13%
[41-51[9	13%
[51-61[13	18%
[61-71[19	27%
[71-81[11	16%
[81-91[2	3%
	N=70	

Tableau2 : répartition des cas selon le sexe :

Sexe	Nombre de cas	Pourcentage %
Homme	47	67%
Femmes	23	33%
	N =70	

Tableau 3 : la répartition des cas selon la localisation :

a)

La localisation	Nombre de cas	Pourcentage %
Ganglionnaire	36	51%
Extra ganglionnaire	34	49%
	N=70	

b) la répartition des localisations extra-ganglionnaires.

La localisation	Nombre de cas	Pourcentage %
Gastrique	11	32 %
Médullaire osseuse	5	14 %
Thyroïdienne	4	12 %
Testiculaire	3	9 %
Cutanée	3	9 %
Pulmonaire	2	6 %
Pharyngienne	1	3 %
Prostatique	1	3 %
Hépatique	1	3 %
Colique	1	3 %
Cérébrale	1	3 %
Musculo-adipeuse	1	3 %
	N=34	

Tableau 4 : la répartition des patients selon le type histologique :

Lymphomes B Sous / type	Nombre de cas	Pourcentage %
Lymphome B diffus à grandes cellules B	46	66%
Lymphome de la Zone marginale(MALT)	12	17,14 %
Lymphome à cellules du manteau	6	8,5%
Lymphome folliculaire	4	5,7%
Lymphome lymphocytaire	1	1,4%
Lymphome B riche en cellules T /histiocytes	1	1,4%
	N= 70	

Annexe 3 : Appareillages.



Automate de circulation



Microtome



Automate de coloration



Etuve memmert



Appareil d'inclusion



Bain marie



Microscope optique

Annexes 4: Matériels non biologiques

a) Réactives et solution :

- 3-3` diaminobenzidine (DAB)
- Ammoniaque
- Anticorps primaires
- Anticops secondaire
- Eau distillée
- Eau oxygénée
- Eosine.
- Ethanol (95% ,75%,65%)
- Formol à 10%.
- Hématoxyline de Mayer
- Milieu de montage
- Paraffine
- Target Retrieval Solution(TRS)
- Xylène

B) Verrerie et autre matériel :

- Bacs de rinçage
- Cassettes en plastiques
- Crayon
- Dako Pen
- Eprouvette graduée
- Gants stérilisés
- Lames coupantes
- Lames et lamelles
- Micropipette
- Moules en métal
- Papier absorbant
- Pincés
- Porte lames

C) Préparation des solutions :

▪ Préparation des DAB :

Ajouter 1 μ l de DAB dans 2 ml de diluant.

▪ Préparation de BPS :

Diluer 1 sachet de BPS (11,6g) en 1 litre d'eau distillé.

▪ Préparation de Target Retrieval Solution (TRS), Ph9 ;Ph6 (10%) :

Préparer une solution de travail en dilution le concentré au 1/10 ème dans de l'eau distillée

D) Caractéristiques des anticorps monoclonaux :

Anticorps monoclonaux	Clone	L'expression	PH de démasquage	La dilution
Monoclonal Mouse Anti-Human CD 20	L26	Membranaire	9	Prêt à emploi
Monoclonal Mouse Anti-Human CD79a	JCB117	Membranaire / Cytoplasmique.	9	Prêt à emploi
Monoclonal Mouse Anti-Human CD23	MHM6	Membranaire	6	1/50
Monoclonal Mouse Anti-Human CD5	4C7	Membranaire	9	Prêt à emploi
Polyclonal Rabbit Anti-Human CD3	UCHT1	Membranaire / Cytoplasmique.	9	Prêt à emploi
Monoclonal Mouse Anti- Human BCL2	124	Cytoplasmique.	9	Prêt à emploi
Monoclonal Mouse Anti- Human Cycline D1	EP12	Cytoplasmique.	9	Prêt à emploi
Monoclonal Mouse Anti-Human CD45	4KB5	Membranaire	9	Prêt à emploi

* 1/50= Ajoute 1µl du CD 23 à 50 µl du diluant.

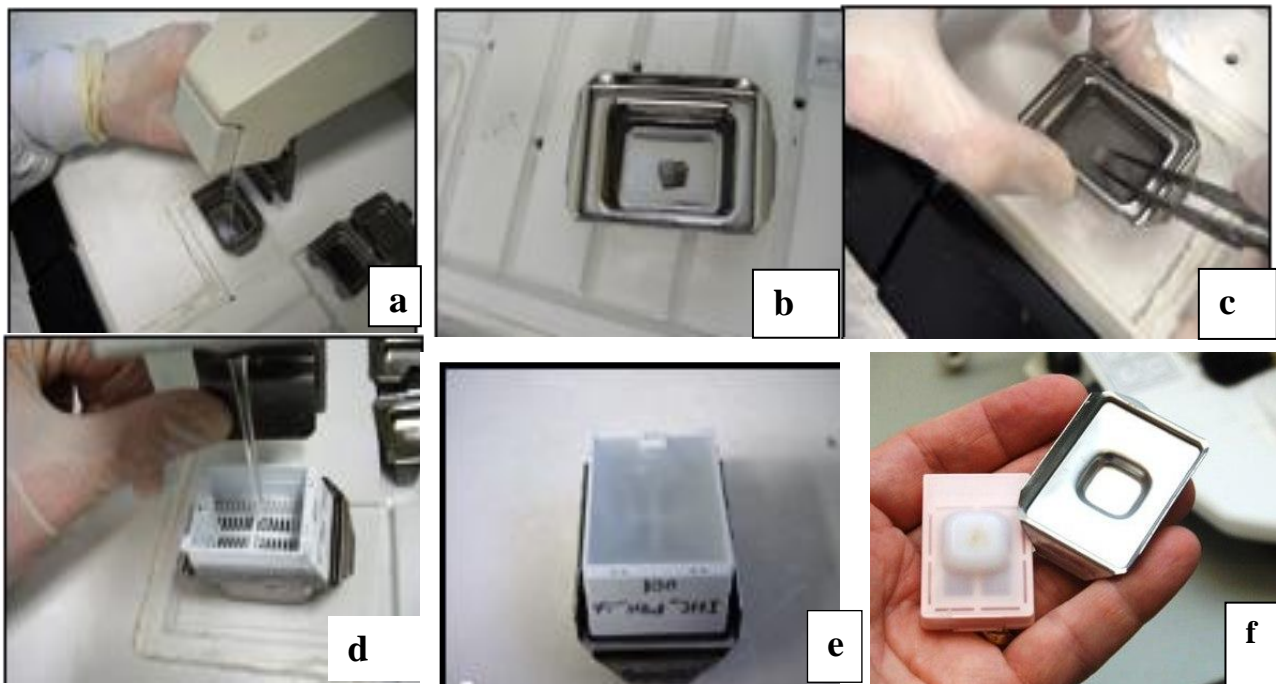
Annexe : 4

L'étape de la déshydratation : réalisé par un automate qui va plonger les cassettes comportant les prélèvements dans douze bains, le tout durant 24 heures :

- * Huit bains d'alcool pour la déshydratation : consiste à changer l'eau contenue dans les cellules par l'alcool à concentration croissante.
- * deux bain de xylène pour l'éclaircissement : ce qui permet à enlever l'alcool de déshydrations.
- * deux bains de paraffine liquide pour l'imprégnation : cette étape permer de remplacé l'eau retirée par la déshydratation en utilise la paraffine liquide qui confère au tissu une rigidité après refroidissement donc de garder intact la structure interne de l'échantillon lors de la coupe.

L'étape de la coloration : La coloration hématoxyline-éosine(HE) des coupes est effectuée comme suite :

- * Passages des lames dans 3 bains de xylène (5 minute pour chacun)
- * Passages des lames dans 3 bains d'alcool à concentration décroissants (95% ; 75% ; 65%).
- * Un bain d'eau distillée pour le rinçage (5 minute).
- * Passage dans un bain d'acide alcoolique.
- * Un bain d'eau distillée pour le rinçage.
- * Passage des lames dans 4 bains d'hématoxyline.
- * Deux bains d'eau distillée pour le rinçage.
- * Passage des lames dans un bain d'ammoniaque.
- * Un bain d'eau distillée pour le rinçage.
- * Passages des lames dans 3 bains d'éosine.
- * Trois bains d'eau distillée pour le rinçage.

Les étapes de l'inclusion :**Les étapes de l'inclusion :**

a-verser une quantité de paraffine.

b- déposer le prélèvement dans un moule.

c- bien centré le prélèvement.

d- déposer une partie de la cassette sur le moule et verser encore la paraffine dessus.

e- laisser refroidir sur la plaque refroidissante.

f- démoulé le bloc.