

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR 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 DIPLÔME DE
MASTER EN BIOLOGIE**

Option :

BIOSIGNALISATION MOLECULAIRE ET CELLULAIRE ; IMMUNOLOGIE

Thème

**Etude des caractéristiques histologiques et
immunohistochimiques de 80 cas de lymphome malin**

Présenté par :

MOULAY Nabil

Date de soutenance :

04 / 07 / 2013

Devant le jury :

Pr. KALEM K.

Professeur à l'hôpital HD. ALGER

Promotrice

M^{me} OUARAB S.

Chargé de cours U.S.D.B

Présidente

M^{me} ANANE A.

Chargé de cours U.S.D.B

Examinatrice

M^r KHALED H.

Chargé de cours U.S.D.B

Examineur

**Promotion
2011-2012**

Dédicace

Je dédie ce mémoire à:

A mes parents, que Dieu me les garde:

- ▣ Ma chère mère pour sa gentillesse, son affection, sa douceur, sa tendresse, ses encouragements éternels et sans elle rien n'aurait pu être possible.*
- ▣ Mon cher père pour son encouragement, sa patience, son aide éternelle et son soutien financier sur le long chemin de mes études.*
- ▣ A mon adorable sœur Yasmine.*
- ▣ A mes chers frères : Yazid, Anis et Younes, à qui je souhaite beaucoup de bonheur et réussite dans leurs vies.*
- ▣ A mes grands mères, mes oncles Mohammed, Daïffellah et Taher.*
- ▣ A toute la famille Moulay.*
- ▣ A mes chères amis pour ne pas dire mes frères : Hammouda, Yacin, Abdour, Karim, Mohamed, Sadek, Omar, Lyes, Fouad, Samir, Sidahmed, Slimen, Okba, Khaled et Bachir.*
- ▣ A tous les qualitiens et tous mes collègues de travail chez l'entreprise CEPRO-Alger.*
- ▣ A tous ceux qui m'ont aidé pour réaliser ce modeste travail.*
- ▣ Tous qui m'ont enseigné durant mes études et à toute la promotion de CQA 2010-2011 et BMCI 2011-2012.*

Nabil

Remerciements

*En premier lieu, je remercie mon **Dieu** pour sa clémence et qui m'a donné le courage, la volonté et surtout la santé pour réaliser ce modeste travail*

C'est un plaisir autant qu'un devoir d'exprimer mes gratitudees à toutes les personnes ayant contribué, chacune à sa manière, pour le bon déroulement de ma formation.

*Mes vifs remerciements à ma promotrice Madame **KALEM .K** - professeur à l'hôpital HD. Alger- d'avoir accepté de m'encadrer dans la réalisation de ce mémoire.*

*Mes sincères remerciements et gratitudees s'adressent à **M^{me} OUARAB S.** d'avoir fait l'honneur de présider la séance de ma soutenance tout en lui adressant mes respectueuses considérations.*

*Je tiens à remercier l'examineur **M^{me} ANANE A.** qui a aimablement accepté de faire partie de mon jury de thèse. Sincères remerciements.*

*Tous mes remerciements vont à **M' KHALED H.** qui m'accorde l'honneur d'examiner mon travail.*

Je témoigne ma gratitude à l'ensemble de l'équipe de laboratoire d'anatomie pathologique CHU Hussein Dey-Alger, ainsi qu'à toutes les personnes qui nous ont aidés au niveau de ce laboratoire.

*Je remercie infiniment **M^{elle} SAADI .L** - Maitre Assistant A à l'Université Saad Dahleb de Blida- pour son aide précieuse, conseils, sa gentillesse, sa dynamique, et sa disponibilité.*

J'exprime également mes remerciements à tous les enseignants de département de Biologie qui ont contribué à ma formation.

Merci pour vous !

Résumé

Les lymphomes malins représentent un groupe hétérogène de proliférations malignes du système lymphoïde. Dans ce cadre, nous avons jugé utile d'étudier l'expression des molécules CD20 et CD3 pour les lymphomes malins non hodgkiniens (LMNH) et les molécules CD20, CD15 et CD30 pour les lymphomes de Hodgkin (LH) par une étude immunohistochimique. Notre étude est réalisée au niveau du laboratoire d'Anatomie Pathologique du CHU Hussein Dey à Alger pendant trois mois.

L'étude anatomo-clinique est réalisée sur 80 patients. Ce travail montre que les lymphomes malins peuvent survenir à tout âge et sont plus fréquents dans le sexe masculin (55% pour les LH et 65% pour les LMNH) que dans le sexe féminin.

L'étude immunohistochimique utilisant les anticorps montre que pour le lymphome de Hodgkin les cellules de Reed-Sternberg (RS) expriment dans 100% des cas l'antigène CD30, dans 75% des cas l'antigène CD 15 et dans 40% des cas le CD20, alors que pour LMNH, les récepteurs CD20 montrent une forte expression par les cellules tumorales des LMNH à grandes cellules B.

Mots clés : lymphome de Hodgkin ; lymphomes malins non hodgkiniens ; anticorps; immunohistochimie.

Summary

Malignant lymphoma represents a heterogeneous group of malignancies of the lymphoid System. In this context, we proposed to study the expression of CD20 and CD3 molecules for the malignant non-Hodgkin's lymphoma (MNHL) and CD20, CD15 and CD30 molecules for the Hodgkin's lymphoma (HL) by immunohistochemistry with antibodies. Our study was carried out at the Laboratory of Pathology, CHU Hussein Dey, Algiers for three months.

The clinicopathological study is carried out on 80 patients. This work shows that the malignant lymphomas can occur at any age and are more frequent in the male sex (55% for the HL and 65% for the LMNH) than in the female sex.

The Immunohistochemical study using the antibodies shows that for the Hodgkin's lymphoma the Reed-Sternberg (RS) cells express in 100% of cases antigen CD30, in 75% of cases the antigen CD15 and in 40% of cases the CD20, whereas for MNHL the anti CD20 and anti CD3 antibodies showed positive labeling for CD20 therefore our patients are suffering from an NHL whose origin is a B lymphocyte.

Key words: Hodgkin's lymphoma; malignant non-Hodgkin's lymphoma; antibody; immunohistochemistry.

المخلص

الأورام اللمفاوية الخبيثة تمثل مجموعة غير متجانسة من انتشار خبيث للنظام اللمفاوي. في هذا السياق، وجدنا أنه من المفيد دراسة التعبير عن المستقبلات الغشائية CD20 و CD3 للأورام اللمفاوية الخبيثة الاهدجينية و المستقبلات CD20 و CD15 و CD30 للأورام اللمفاوية الخبيثة الاهدجينية بواسطة تقنية الوسم المناعي. وقد أجريت دراستنا في مختبر علم تشريح المرضى بحسين داي في الجزائر العاصمة لمدة ثلاثة أشهر.

أظهرت الدراسة على 80 مريضا أن الأورام اللمفاوية الخبيثة يمكن أن تحدث في أي عمر، وهي أكثر شيوعا عند الذكور (الأورام اللمفاوية الخبيثة الاهدجينية 55% و الأورام اللمفاوية الخبيثة الاهدجينية 65%) مما عليه عند الإناث.

دراسة الوسم المناعي باستخدام الأجسام المضادة بينت على أن الأورام اللمفاوية الخبيثة الاهدجينية ممثلة بخلايا ريد-ستيرنبرغ تظهر في 100% من الحالات المستقبل CD30، في 75% من الحالات المستقبل CD15 و في 40% من الحالات المستقبل CD20، في حين أن مستقبلات الأورام اللمفاوية الخبيثة الاهدجينية CD20 أظهرت تعبيراً قوياً من قبل الخلايا السرطانية الكبيرة B.

الكلمات الدالة: الأورام اللمفاوية الخبيثة الاهدجينية، الأورام اللمفاوية الخبيثة الاهدجينية، مضاد الجسم، الوسم المناعي.

Glossaire

Adénopathie : Gonflement d'un ou de plusieurs ganglions lymphatiques, d'origine inflammatoire, infectieuse ou allergique ; ce gonflement peut aussi témoigner d'une affection maligne soit directe (par exemple lymphome), soit secondaire (par métastase).

Apoptose : dite mort cellulaire programmée, est l'un des processus de mort cellulaire agissant normalement dans un organisme.

Biopsie : Prélèvement d'un fragment de tissu ou d'organe à des fins d'examen microscopique.

Cellules de Sternberg : À l'examen microscopique d'un prélèvement de ganglion hodgkinien, la cellule de Sternberg apparaît comme une cellule de grande taille, dotée d'un gros noyau bourgeonnant et d'aspect boursoufflé qui contient plusieurs nucléoles (éléments arrondis) bleutés, très visibles, évoquant des yeux. Elle est en outre porteuse de marqueurs de surface,

Cytopénie : Diminution du nombre des cellules.

Diaphragme : Cloison musculotendineuse qui sépare la cavité thoracique de la cavité abdominale.

Exérèse : Opération consistant à enlever un organe, un ensemble de tissus ou un corps étranger par voie chirurgicale.

Fibrose : Augmentation pathologique du tissu conjonctif d'un organe.

Hémopathie : Maladie du sang (par exemple les anémies et les leucémies).

Hépatomégalie : Augmentation de volume du foie.

Homéostasie : se définit comme la capacité de l'organisme de maintenir un état de stabilité relative des différentes composantes de son milieu interne et ce, malgré les changements constants de l'environnement externe.

Hyperéosinophilie : Présence de leucocytes polynucléaires éosinophiles dépassant 500 par mm³ ; on emploie souvent ce terme pour désigner une variété de leucocytose dans laquelle l'augmentation du chiffre des leucocytes porte exclusivement sur les éosinophiles.

Imagerie par résonance magnétique (IRM) : Technique d'imagerie radiologique utilisant les propriétés de résonance magnétique nucléaire des composants du corps humain (les protons).

Oncogénèse : Synonyme : cancérogénèse, c'est-à-dire la conversion d'une cellule normale en cellule tumorale, c'est phénomène provoqué par un oncogène (il s'agit d'un gène localisé sur un virus ou dans une cellule capable de transformer une cellule normale en une cellule cancéreuse).

Pronostic : qui prévoit les possibilités de l'évolution et le risque de rechute.

Tomographie : Examen radiologique permettant d'obtenir des images sous forme de coupes anatomiques. Adénopathie : est une pathologie du ganglion lymphatique, qui peut être anormalement gros suite à une infection, une inflammation ou une tumeur.

Liste des abréviations

Ac : Anticorps.

AFAA : Alcool éthylique formol acide acétique.

Ag : Antigène.

BALT : Bronchus-associated lymphoid tissue (Tissu lymphoïde associé aux bronches).

EBV : Epstein barrvirus (virus d Epstein Barr).

GALT : Gut-associated lymphoid tissue (Tissu lymphoïde associé à l'intestin).

Ig : Immunoglobuline.

IRM : Imagerie par résonance magnétique.

LH: Lymphome de Hodgkin.

LHC : Lymphome de Hodgkin classique.

LMNH : Lymphome malin non hodgkinien.

MALT: Mucosa-associated lymphoid tissue (Tissu lymphoïde associé aux muqueuses).

NK cells : Natural killer cells (Cellules tueuses naturelles).

OMS : Organisation mondiale de la santé.

REAL: Revised European American Lymphoma.

RS : Cellule de Reed-Sternberg.

SNC : Système nerveux central.

TCR : T cell receptor (Récepteur des cellules T).

TDM : Tomodensitomètre.

VIH : Virus d'immunodéficience humaine.

Liste des figures	Page
Figure 1 : Structure d'un ganglion lymphatique (© Larousse, 2006).....	3
Figure 2 : adénopathie (photo originale).....	17
Figure 3 : principe de la technique immuno-histochimique (Anonyme, 2009).....	21
Figure 4 : Répartition globale des 40 patients atteints de LH selon le sexe.....	23
Figure 5 : Répartition globale des 40 patients atteints de LH selon l'âge.....	24
Figure 6 : Répartition globale des patients atteints de LH selon l'âge et le sexe.....	24
Figure 7 : Les principaux signes cliniques des patients atteints d'un LH.....	25
Figure 8 : Répartition globale des patients atteints d'un LH selon le type histologique.....	26
Figure 9 : Répartition globale des patients atteints d'un lymphome de Hodgkin classique selon le sous- type histologique.....	26
Figure 10 : Aspect d'un lymphome de Hodgkin classique. Coloration HE ; Grossissement x40(A) et x40(B) (Photos originales).....	27
Figure 11 : Forme scléronodulaire. Coloration HE ; Grossissement x4 (A) et x40 (B) (Photos originales).....	28
Figure 12 : Forme à cellularité mixte. Coloration HE ; Grossissement x10 (A) et x40 (B) (Photos originales).....	28
Figure 13 : Forme riche en lymphocyte. Coloration HE ; Grossissement x4 (A) et x40 (B) (Photos originales).....	29
Figure 14 : Forme à déplétion lymphocytaire. Coloration HE ; Grossissement x4 (Photo originale).....	29
Figure 15 : Lymphome de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire. Coloration HE ; Grossissement x40 (Photo originale).....	30
Figure 16 : Immunomarquage au CD20 ; Grossissement x40 (Photo originale).....	31
Figure 17 : Immunomarquage au CD 15 ; Grossissement x40 (Photo originale).....	31

Figure 18 : Immunomarquage au CD30 ; Grossissement x40 (Photo originale).....	32
Figure 19 : Répartition globale des 40 patients atteints de LMNH selon le sexe.....	35
Figure 20 : Répartition globale des 40 patients atteints de LMNH selon l'âge.....	36
Figure 21 : Répartition globale des patients atteints de LMNH selon l'âge et le sexe.....	36
Figure 22 : Les principaux signes cliniques des patients atteints d'un LMNH.....	37
Figure 23 : Répartition globale des 40 patients atteints de LMNH selon le siège anatomique.....	38
Figure 24 : Répartition globale des patients atteint d'un LMNH selon le grade de malignité.....	38
Figure 25 : Répartition des patients atteints d'un LMNH selon le grade de malignité et le sexe.....	39
Figure 26 : Répartition des patients atteints d'un LMNH selon le grade de malignité et l'âge.....	40
Figure 27 : Répartition globale des patients atteints d'un LMNH selon le type histologique.....	41
Figure 28 : Répartition des patients atteints d'un LMNH ganglionnaire selon le sexe.....	42
Figure 29 : Répartition des patients atteints d'un LMNH ganglionnaire selon l'âge.....	42
Figure 30 : Le site du LMNH ganglionnaire.....	43
Figure 31 : Répartition des patients atteints d'un LMNH extra-ganglionnaire selon le sexe.....	44
Figure 32 : Répartition des patients atteints d'un LMNH extra-ganglionnaire selon l'âge.....	44
Figure 33 : Répartition des patients atteints d'un LMNH extra-ganglionnaire selon l'âge.....	45
Figure 34 : LMNH à grandes cellules B. Gr x 200.....	46
Figure 35 : LMNH intestinal, Gr x 100.....	46
Figure 36 : LMNH Lymphocytaire Gr x 200.....	47

Figure 37 : LMNH Du Manteau Grx200.....	47
Figure 38 : LMNH moelle osseuse Grx100.....	48
Figure 39 : IHC à l'anticorps anti CD20 d'un ganglion réactionnel, Grx100.....	48
Figure 40 : LMNH lymphocytaire IHC à l'anticorps anti CD20, Grx100.....	49
Figure 41 : LMNH gastrique de type MALT ; IHC à anticorps anti CD20, Grx100.....	49
Figure 42 : Représentation schématique de la différenciation lymphocytaire B et des principaux désordres lymphoprolifératifs correspondants, d'après (Jaffe et <i>al.</i> , 2008).....	Annexe I
Figure 43 : Représentation schématique de la différenciation lymphocytaire T et des principaux désordres lymphoprolifératifs correspondants, d'après (Jaffe et <i>al.</i> , 2008).....	Annexe I

Liste des tableaux

Page

Tableau I : Classification de la maladie de Hodgkin selon Lukes-Rrye et l’OMS (Delsol, 2008), (Fermé, 2004)6

Tableau II : Classification OMS des lymphomes (2008) (Swerdlow et *al.*, 2008)11

Tableau III : Résultats immunophénotypiques.....30

Annexe I : Matériel et méthodes

Tableau IV : Quantité d'eau en cm³ à ajouter à 100cm³ d'alcool à diluer

Annexe II : Résultats et discussion

Tableau V.1 : Répartition globale des 40 patients atteints de LH selon le sexe.

Tableau V.2 : Répartition globale des 40 patients atteints de LH selon l'âge.

Tableau V.3 : Répartition globale des patients atteints de LH selon l'âge et le sexe.

Tableau V.4 : Les principaux signes cliniques des patients atteints d'un LH.

Tableau V.5 : Répartition globale des patients atteints d'un LH selon le type histologique.

Tableau V.6 : Répartition globale des patients atteints d'un lymphome de Hodgkin classique selon le sous- type histologique.

Tableau V.7 : Répartition globale des 40 patients atteints de LMNH selon le sexe.

Tableau V.8 : Répartition globale des 40 patients atteints de LMNH selon l'âge.

Tableau V.9 : Répartition globale des patients atteints de LMNH selon l'âge et le sexe.

Tableau V.10 : Les principaux signes cliniques des patients atteints d'un LMNH.

Tableau V.11 : Répartition globale des 40 patients atteints de LMNH selon le siège anatomique.

Tableau V.12 : Répartition globale des patients atteint d'un LMNH selon le grade de malignité.

Tableau V.13 : Répartition des patients atteints d'un LMNH selon le grade de malignité et le sexe.

Tableau V.14 : Répartition des patients atteints d'un LMNH selon le grade de malignité et l'âge.

Tableau V.15 : Répartition globale des patients atteints d'un LMNH selon le type histologique.

Tableau V.16 : Répartition des patients atteints d'un LMNH ganglionnaire selon le sexe.

Tableau V.17 : Répartition des patients atteints d'un LMNH ganglionnaire selon l'âge.

Tableau V.18 : Le site du LMNH ganglionnaire.

Tableau V.19 : Répartition des patients atteints d'un LMNH extra-ganglionnaire selon le sexe.

Tableau V.20 : Répartition des patients atteints d'un LMNH extra-ganglionnaire selon l'âge.

Tableau V.21 : Répartition des patients atteints d'un LMNH extra-ganglionnaire selon l'âge.

Sommaire

Sommaire	Page
Introduction	1
 Chapitre I : Etude bibliographique	
I.1. Rappels sur le système lymphatique.....	2
I.2. Les ganglions lymphatiques.....	2
I.3. Les lymphomes malins	4
I.3.1. Lymphomes hodgkiniens (Maladie de Hodgkin).....	4
I.3.1.1. Epidémiologie.....	4
I.3.1.2. Diagnostic clinique.....	5
I.3.1.3. Diagnostic histologique.....	5
I.3.1.4. Bilan paraclinique.....	8
I.3.1.5. Chirurgie diagnostique.....	10
I.3.1.6. Classification anatomique.....	10
I.3.2. Lymphomes malins non-hodgkiniens (LNH).....	10
I.3.2.1. Epidémiologie.....	12
I.3.2.2. Diagnostic clinique.....	13
I.3.2.3. Classifications histo-pronostiques.....	13
I.3.2.4. Facteurs pronostiques.....	14
I.3.2.5. L'index pronostique international (IPI).....	14
I.3.2.6. Bilan lors du diagnostic.....	15
 Chapitre II : Matériel et méthodes	
II.1. Matériel biologique.....	16
II.2. Méthodes.....	16
II.2.1. Recueil des renseignements cliniques.....	16
II.2.2. Etude anatomopathologique.....	17
II.2.2.1. Examen macroscopique.....	17
II.2.2.2. Examen microscopique.....	17
II.2.3. Etude immunohistochimique.....	20

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. lymphome de Hodgkin.....23

III.1.1. Etude rétrospective.....23

III.1.2. Etude histologique.....27

III.1.3. Etude immunohistologique.....31

III.1.4. Discussion.....32

III.2. Lymphomes malins non hodgkiniens.....35

III.2.1 Etude rétrospective.....35

III.2.2. Etude histologique.....45

III.2.3. Etude immunohistochimique.....48

III.2.4. Discussion.....49

Conclusion et perspectives.....54

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Les lymphomes sont des tumeurs malignes solides développées à partir du système lymphatique, qui participe aux réactions de défense de l'organisme. Ils peuvent se développer dans n'importe quel organe contenant du tissu lymphoïde (Lefrère et Trébucq, 2006). On distingue deux grands types de lymphomes : la maladie de Hodgkin et les lymphomes malins non hodgkiniens (LMNH).

La maladie de Hodgkin est une hémopathie maligne qui représente 1% de l'ensemble des tumeurs malignes, elle touche préférentiellement les sujets jeunes (Anonyme, 2006). Son diagnostic demeure basé sur la reconnaissance des cellules malignes de Reed Sternberg (RS) et de Hodgkin d'origine lymphoïde B au sein d'un environnement cellulaire particulier (Atul et Mehta, 2007). Sa cause reste inconnue mais l'infection par un virus potentiellement oncogène (EBV) peut être un cofacteur (Baur Chaubert, 2004). L'extension de la maladie se fait par voie lymphatique de proche en proche, ou par voie hématogène (Bergeron et Gall, 2000). Le bilan d'extension précisant les territoires ganglionnaires et/ou viscéraux envahis, le volume tumoral, et l'analyse des facteurs pronostiques sont une étape essentielle pour définir le traitement nécessaire et en réduire les risques (Atul et Mehta, 2007).

Les LMNH s'observent à tout âge mais l'âge médian de survenue se situe entre 55 et 60 ans. L'homme est plus touché que la femme, avec un sex-ratio de l'ordre de 1,8 en France (Legris et *al.*, 2003). En Algérie, le risque relatif d'avoir un LMNH semble plus faible dans notre population qu'en Europe ou aux Etats-Unis où le risque relatif est de 12 à 15 cas pour 100.000 habitants (Boudjerra *et al.*, 2006). Les LMNH se développent essentiellement à partir de cellules lymphoïdes de lignées B et à partir de cellules lymphoïdes de lignées T ou plus rarement NK. Bien que présentant des caractéristiques communes, les LMNH regroupent de nombreuses entités différentes en particulier aux plans clinique, histologique, évolutif, pronostique et thérapeutique (Swerdlow et *al.*, 2008).

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est d'étudier les caractéristiques histologiques et immunohistochimiques des lymphomes malins.

Chapitre I : Etude bibliographique

I.1. Rappels sur le système lymphatique

Le réseau lymphatique fait partie du système de défense de l'organisme. Souvent méconnu, ce système est vital pour le fonctionnement cardiovasculaire, l'absorption et le transport des graisses. Il restitue dans le système vasculaire environ 3 litres de liquide interstitiel/jour ainsi que des protéines, et joue un rôle majeur dans le système de défense immunitaire de l'organisme (Brooker, 2001).

Le système lymphatique comprend deux parties plus ou moins indépendantes : un réseau sinueux de vaisseaux lymphatiques qui rapportent dans la circulation sanguine le surplus de liquide interstitiel résultant de la filtration des capillaires ; divers organes et tissus lymphatiques qui abritent les phagocytes et les lymphocytes, agents essentiels de la défense de l'organisme et de la résistance aux maladies « principalement aux infections bactériennes et virales » (Marieb, 2005).

Les organes lymphoïdes primaires principalement la moelle osseuse et le thymus produisent les constituants cellulaires du système immunitaire alors que les organes lymphoïdes secondaires sont les sites où se déroulent les réactions immunitaires ; ils incluent les ganglions lymphatiques, la rate et le tissu lymphoïde associé aux muqueuses (Kierszenbaum, 2006).

I.2. Les ganglions lymphatiques

I.2.1. Anatomie

Les ganglions sont des formations nodulaires dispersées le long des voies lymphatiques. Ils sont regroupés dans plusieurs territoires superficiels (cervicaux, axillaires, inguinaux, occipaux) et profonds (médiastinaux, mésentériques, iliaques...). Ce sont des nodules réniformes, entourés d'une capsule fibreuse et possèdent un parenchyme divisé en deux parties, le cortex et la médulla (Figure1) (Maloum et Settegrana, 2009).

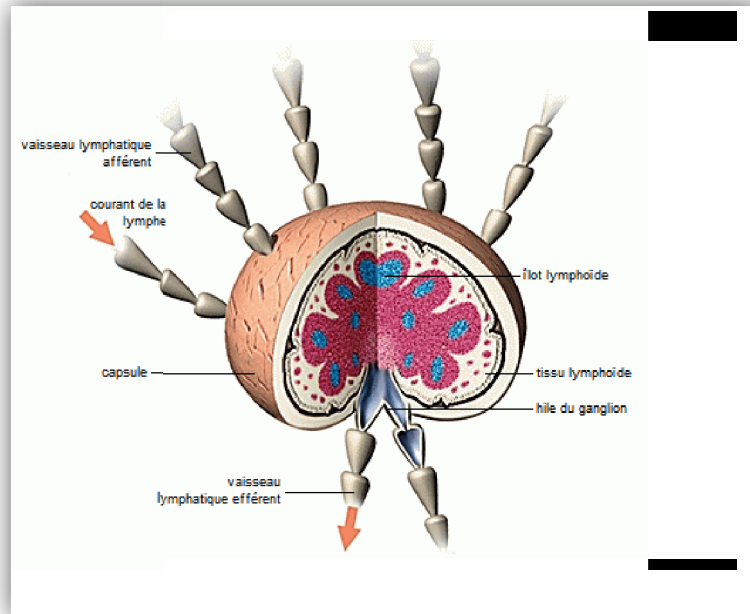


Figure 1 : Structure d'un ganglion lymphatique (© Larousse, 2006).

I.2.1.1. Le cortex

Le cortex comprend (Maloum et Settegrana, 2009) :

- Le cortex externe localisé en périphérie du ganglion et majoritairement constitué de lymphocytes B organisés en follicules. Avant toute stimulation, les follicules dits primaires sont formés de petits lymphocytes et d'un réseau lâche de CFD. Après stimulation antigénique, les follicules primaires se transforment en follicules secondaires, ces derniers comprennent chacun un centre germinatif caractérisé par la présence d'un réseau dense et complexe de CFD associé à une population lymphoïde B polymorphe majoritaire, des lymphocytes T (5 % à 10 %) et quelques macrophages sont également présents.
- Le paracortex correspond à la région thymodépendante où prédominent des lymphocytes T, associés à des cellules histiocytaires dispersées, appelées cellules interdigitantes, ce sont les CPA des zones T.

I.2.1.2. La médulla

Il s'agit d'une zone riche en plasmocytes et macrophages, formée de cordons séparés par les sinus lymphatiques médullaires (Maloum et Settegrana, 2009).

Les ganglions sont alimentés par une double vascularisation lymphatique et sanguine. Des vaisseaux lymphatiques afférents abordent les ganglions par leur face convexe et se

déversent dans les sinus périphériques puis médullaires collectés au sein d'un vaisseau lymphatique efférent. La circulation lymphatique permet la pénétration des antigènes dans les ganglions alors que la circulation sanguine consiste en une artère qui aborde le ganglion par le hile puis se divise en artérioles et capillaires qui irriguent la région périphérique des ganglions. Les capillaires sont collectés dans des veinules post capillaires rejoignant une veine efférente qui quitte le ganglion par le hile (Maloum et Settegrana, 2009).

I.2.2. Physiologie

Les ganglions sont des organes assimilables à des filtres interposés sur la circulation lymphatique. Ils ont une double fonction (Marieb, 2005) :

- Exclusion des pathogènes par phagocytose des macrophages.
- Initiation de la réponse immunitaire adaptative.

I.3. Les lymphomes malins

Les lymphomes sont des tumeurs malignes développées à partir du système lymphatique, qui participe aux réactions de défense de l'organisme. Ils peuvent se développer dans n'importe quel organe contenant du tissu lymphoïde (Lefrère et Trébucq, 2008).

On distingue deux grands types de lymphomes :

- La maladie de hodgkin
- Les lymphomes malins non hodgkiniens

I.3.1. Lymphomes hodgkiniens (Maladie de Hodgkin)

Décrite en 1832 par Thomas Hodgkin, la maladie de Hodgkin est entrée dans le sérail des lymphomes, et la dernière nomenclature anatomopathologique internationale de OMS la désigne désormais lymphome de Hodgkin (LH) due à la démonstration de la nature lymphoïde, généralement B des cellules tumorales (Cracco et *al.*, 2007).

Le LH est caractérisé par la présence des cellules RS au sein d'un ganglion dont l'architecture est profondément remaniée. Ces cellules, en faible quantité (moins de 1 %), sont associées à une réaction tissulaire inflammatoire intense et polymorphe comprenant des lymphocytes T et B ainsi que de nombreuses autres cellules (Parker et Grosjean, 2009).

I.3.1.1. Epidémiologie

La maladie de Hodgkin représente 40 % des lymphomes malins avec une incidence standardisée estimée à 2,4/100 000 chez l'homme et 1,7/100 000 chez la femme en France où elle représente 0,24 % de la mortalité par cancer. Le taux de survie globale à 5 ans est supérieur à 75 %. Il existait classiquement une répartition bimodale pour l'âge de survenue

avec un premier pic de fréquence prédominant entre 20 et 30 ans avec un sexe ratio H/F de 1/1 et un 2eme pic moins marqué au delà de 50 ans avec une nette prédominance masculine. L'hypothèse de deux affections différentes est émise par certain (Antoine, 2006).

I.3.1.2. Diagnostic clinique

La maladie de Hodgkin est une affection maligne ganglionnaire et l'aspect habituel est celui d'adénopathies isolées sur le plan symptomatique. Ces adénopathies sont fermes, non inflammatoires, non douloureuses, mobiles, d'évolution clinique lentement progressive sur plusieurs semaines, voire plusieurs mois (Antoine, 2006) :

a. Signes généraux

Environ 1/3 des patients présentent des signes systémiques. On retient comme significatifs l'existence d'une fébricule $\geq 38^{\circ}$ d'évolution chronique depuis au moins 7 jours, de sueurs nocturnes profuses ou d'un amaigrissement supérieur à 10 % du poids du corps en moins de 6 mois. Si l'un au moins de ces signes est présent, on peut parler de symptômes «B» aggravant le pronostic (A en l'absence de ces signes). Un prurit diffus, sans incidence pronostique peut également être présent.

b. Autres signes cliniques

Une splénomégalie peut être retrouvée dans environ 20 % des cas, parfois une hépatomégalie.

D'autres signes plus exceptionnels peuvent être liés à une autre atteinte extra ganglionnaire (poumon, os, moelle osseuse).

I.3.1.3. Diagnostic histologique

Le diagnostic initial ne peut être fait que sur une biopsie ganglionnaire, même si une ponction cytologique a pu l'évoquer fortement. La biopsie doit être chirurgicale et retirer une adénopathie entière, le plus souvent au niveau cervical.

La cellule de Reed-Sternberg est classiquement indispensable au diagnostic de maladie de Hodgkin. Elle peut être très rare dans certaines formes histologiques. On admet actuellement que la cellule de Reed-Sternberg est d'origine lymphoïde B et qu'elle est bien la cellule dont la prolifération est à l'origine de l'affection (Antoine, 2006).

Types histologiques

Selon la classification de Rye, en fonction du nombre de cellules de Reed Sternberg et du fond cellulaire associé, on distingue classiquement 4 sous-types histologiques (Fermé, 2004). Cependant, la classification actuelle de l'OMS définit 2 entités clinicopathologiques distinctes (Delsol, 2008) (Tableau I).

Tableau I : Classification de la maladie de Hodgkin selon Lukes-Rrye et l'OMS (Delsol, 2008), (Fermé, 2004).

Classification de Lukes-Rye (1966)	Classification OMS (2008)
Type 1 : prédominance lymphocytaire Type 2 : scléronodulaire Type 3 : cellularité mixte Type 4 : déplétion lymphocytaire	<ul style="list-style-type: none"> • Lymphome de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire • Lymphome de Hodgkin classique : <ul style="list-style-type: none"> - Forme sclérosante nodulaire - Forme à cellularité mixte - Forme riche en lymphocytes - Forme à déplétion lymphocytaire

A. Le lymphome de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire

Antérieurement appelé paraganulome de Poppema et Lennart, il s'agit d'une forme rare (5% des LH), souvent localisé et actuellement individualisé du LHC car il correspond à un lymphome B indolent dérivé d'une cellule B du centre germinatif (Carbonnelle et *al.*, 2004) (Fermé, 2004).

A.1. Aspect histopathologique

L'architecture est nodulaire, typiquement sans fibrose. Les cellules tumorales habituellement peu nombreuses ont un aspect caractéristique : grandes, avec un noyau volumineux, clair, polylobé « aspect en pop-corn » comportant plusieurs petits nucléoles et un cytoplasme peu abondant. Des cellules ressemblant aux cellules RS peuvent être présentes, les PNE et les plasmocytes sont absents. Il existe une hyperplasie des follicules lymphoïdes, homogénéisés, dans lesquels sont dispersées les cellules tumorales (Carbonnelle et *al.*, 2004) (Brousse et Gaulard, 2004).

A.2. Aspect immunohistochimique

Les cellules tumorales ont un profil immunohistochimique caractéristique qui les différencie du LHC, elles expriment habituellement les marqueurs B en particulier le CD20 (98 %), elles n'expriment ni le CD15 ni le CD30 excepté dans de rares cas (Carbonnelle et *al.*, 2004).

A. 3. Aspect physiopathologique

Les cellules pop-corn expriment un phénotype B ainsi que les facteurs de transcription Oct-2, Bob1 et PU-1 qui jouent un rôle dans la synthèse des Ig. Par ailleurs, des études génotypiques ont montré la présence d'un réarrangement monoclonal du gène des Ig et d'un haut niveau de mutations somatiques de la région variable du gène de la chaîne lourde des Ig ; ces réarrangements sont fonctionnels contrairement au LHC. Les cellules tumorales semblent avoir une origine centro-folliculaire, comme le montre l'expression presque constante de la protéine Bcl6. Le virus EBV n'est jamais mis en évidence dans les cellules tumorales (Carbonnelle et *al.*, 2004).

B. Le lymphome de Hodgkin classique

Le LHC est caractérisé par une prolifération de cellules de grande taille H/RS au sein d'un stroma leucocytaire polymorphe (Emile, 2007). Il représente 95 % des LH (Molina, 2010).

B.1. Aspect histopathologique

La prolifération maligne comprend d'une part, de grandes cellules mononuclées avec des nucléoles volumineux et un cytoplasme basophile, appelées cellules de Hodgkin et d'autre part, des cellules volumineuses ou géantes avec un noyau multilobé, des nucléoles multiples et volumineux, un cytoplasme abondant et clair, appelées cellules de RS. Les cellules tumorales induisent des réactions cellulaires avec une population de cellules réactionnelles quantitativement très importante, dépassant largement le nombre des cellules tumorales, comportant lymphocytes, éosinophiles, plasmocytes, histiocytes et cellules épithélioïdes en nombre variable. Des petits foyers de nécrose sont possibles, autour desquels les cellules RS ont tendance à se regrouper (Brousse et Gaulard, 2004).

Les réactions cellulaires sont la base de la description des différentes variétés morphologiques du LHC (Fermé, 2004) :

- **Forme scléronodulaire (70 %)** : forme la plus fréquente, avec un épaississement fibreux de la capsule, une architecture nodulaire, une fibrose annulaire ou en bandes épaisses. Les cellules tumorales ont un cytoplasme abondant et clair donnant un aspect lacunaire ;

- **Forme à cellularité mixte (20-25 %)** : la population cellulaire est abondante, formée de cellules lymphoïdes, de plasmocytes, d'histiocytes, de polynucléaires avec des amas de cellules épithélioïdes, dont l'ensemble constitue un granulome ;
- **Forme riche en lymphocytes (5 %)** : prolifération de petits lymphocytes qui peut être confondue avec le paragranelome de Poppema mais avec des cellules RS typiques en immunohistochimie ;
- **Forme à déplétion lymphocytaire** : forme la plus rare (moins de 5 %), longtemps confondue avec les lymphomes malins anaplasiques, composées d'une variante riche en cellules RS et d'une forme avec fibrose collagène diffuse et une déplétion des lymphocytes non tumoraux.

B.2. Aspect immunohistochimique

L'immunophénotype des cellules tumorales est bien caractérisé : l'expression membranaire de CD30, associé souvent à un marquage de la région du Golgi, est retrouvée dans la quasi-totalité des cas. Les cellules RS expriment dans environ 80 % des cas l'antigène CD 15, cette expression est caractéristique, mais non spécifique ; elles expriment la protéine de latence LMP-1 dans environ 40 % des cas, plus fréquemment dans les formes à cellularité mixte et peuvent dans environ 30 % des cas, exprimer CD20 (Fermé, 2004) (Brousse et Gaulard, 2004).

B.3. Aspect physiopathologique

La micromanipulation des cellules RS a permis de démontrer le caractère monoclonal B par l'étude du réarrangement des gènes des Ig. De plus, la détection de mutations somatiques au sein des réarrangements des gènes des Ig a prouvé l'origine des cellules RS dans le centre germinatif. Cependant, la production d'Ig de surface semble être bloquée par l'absence d'un facteur de transcription et/ou de son coactivateur (Fermé, 2004).

Les cellules B du centre germinatif, lorsqu'elles sont dépourvues de récepteur Ig ou expriment un récepteur de faible affinité, meurent rapidement par apoptose. Par analogie, la cellule RS dériverait d'une cellule centrofolliculaire pré-apoptotique, qu'un mécanisme moléculaire transformant possiblement l'EBV ou un autre facteur permet de protéger de l'apoptose (Brousse et Gaulard, 2004).

I.3.1.4. Bilan paraclinique

Lors du diagnostic d'un LH les examens suivants seront à réaliser (Antoine, 2006) :

a. Examens biologiques

L'hémogramme recherche une leucocytose, parfois marquée dans les formes évolutives, avec souvent anémie normochrome. Une anémie hémolytique avec test de Coombs négatif est plus rare. Une accélération de la vitesse de sédimentation érythrocytaire (VS) est souvent présente : elle est utilisée comme facteur de stratification pronostique dans de nombreux protocoles européens. Une élévation des phosphatases alcalines (en l'absence d'atteinte osseuse), ou une hypo albuminémie sont aussi des critères d'évolutivité.

b. Examens d'imagerie

L'évaluation de l'atteinte sus diaphragmatique se fait par la radio thoracique de face qui étudie le médiastin et mesure le rapport médiastino-thoracique au niveau de T4 : si ce rapport est supérieur à 0,33 il définit une forme «bulky» c'est-à-dire volumineuse, qui peut justifier un traitement particulier (Antoine, 2006).

La tomodensitométrie (TDM) thoracique détaille au mieux les atteintes ganglionnaires médiastinales dans tous leurs sites et montre une éventuelle atteinte parenchymateuse pulmonaire.

L'évaluation sous diaphragmatique abdominale et pelvienne se fait également par TDM. Cet examen recherche également une atteinte splénique, hépatique ou mésentérique.

L'échographie peut servir comme examen de «débrouillage» ou de surveillance notamment chez l'enfant et chez les patients minces.

La scintigraphie osseuse au technétium recherche des atteintes osseuses en cas de signes cliniques suspects (douleurs) ou en cas de forme très étendues plus souvent associées aux rares atteintes osseuses.

La scintigraphie au 18 FDG par tomographie d'émission de positron (TEP), couplée à une tomodensitométrie (TEP-TDM) paraît particulièrement intéressante dans la MH. Au diagnostic elle paraît l'examen le plus sensible pour montrer l'ensemble des sites atteints, permettant de classer 10 à 20% des cas dans un stade supérieur à celui défini par les moyens usuels. C'est également un examen très performant dans l'étude de la réponse au traitement.

La biopsie ostéo-médullaire ne retrouve que rarement une atteinte spécifique mais dont l'existence a un grand poids pronostique. Cet examen n'est pas systématique et doit être discuté en cas de forme disséminée ou très évolutive.

La biopsie hépatique ne sera pratiquée que pour confirmer une atteinte hépatique soupçonnée par la biologie ou l'imagerie.

I.3.1.5. Chirurgie diagnostique

Une laparotomie avec splénectomie a été largement utilisée pour préciser l'extension sous diaphragmatique. L'avènement de la TDM et surtout l'utilisation très large de la chimiothérapie, capable de stériliser de petites lésions sous diaphragmatiques non repérées par l'imagerie, ont permis de renoncer à ce type d'exploration.

I.3.1.6. Classification anatomique

Depuis le début des annexes 70 une classification anatomique a été adoptée (classification dite de Ann Arbor, 1971) comportant 4 stades (Schlegel et *al.*, 2007):

- Stade I : maladie limitée a une seule région ganglionnaire (une ou plusieurs adénopathies).
- Stade II : maladie étendue à 2 ou plusieurs régions ganglionnaires d'un même coté du diaphragme
- Stade III : maladie étendue aux chaines ganglionnaires de part et d'autre du diaphragme, pouvant s'accompagner d'une atteinte splénique.
- Stade IV : maladie associée a une atteinte spécifique extraganglionnaire, le plus souvent au niveau du poumon, du foie, ou des os.

Une atteinte extra-ganglionnaire au contact d'une atteinte ganglionnaire ne fait pas classer la maladie en stade IV mais fait ajouter la lettre E au stade concerne. La situation de ce type la plus fréquente est celle d'une atteinte parenchymateuse pulmonaire limitée, au contact d'adénopathies médiastinales volumineuses.

Les signes généraux font adjoindre la lettre A s'ils sont absents ou B si l'un au moins est présent, a cette classification en 4 stades.

I.3.2. Lymphomes malins non-hodgkiniens (LMNH)

Les LMNH sont des proliférations malignes développées à partir des précurseurs cellulaires présents dans les organes lymphoïdes primaires, ou des précurseurs plus matures essentiellement extra-médullaires, présents dans les organes lymphoïdes secondaires. Ces LMNH ont pour point de départ une cellule lymphoïde qui acquiert les caractères de la malignité, c'est-à-dire la capacité à proliférer et/ou s'accumuler de façon incontrôlée et à diffuser dans l'organisme (Lefrère et Trébuçq, 2008).

la classification de l'OMS des lymphomes malins (Tableau II) faisant suite à la classification « REAL » est largement fondée sur l'analyse phénotypique et moléculaire

découlant en partie de travaux sur la différenciation des cellules B et T normales (Russano *et al.*, 2009).

Tableau II : Classification OMS des lymphomes (2008) (Swerdlow *et al.*, 2008).

LYMPHOMES B	LYMPHOMES T et NK
Prolifération de Cellules B « précurseurs »	Prolifération de Cellules T « précurseurs »
<i>Lymphome /leucémie lymphoblastique B</i>	<i>Lymphome/leucémie lymphoblastique T</i>
Proliférations B matures (périphériques)	Proliférations T matures (périphériques)
<i>Leucémie lymphoïde chronique (LLC) B /</i>	<i>Leucémie prolymphocytaire T</i>
Lymphome lymphocytaire	Leucémie lymphocytaire T à gros grains
<i>Leucémie prolymphocytaire B</i>	<i>Syndromes lymphoprolifératifs chroniques à cellules</i>
Lymphome splénique de la zone marginale	<i>NK</i>
Leucémie à tricholeucocytes	Leucémie agressive à cellules NK
<i>Lymphome B splénique/leucémie inclassable</i>	<i>Syndromes lymphoprolifératifs T EBV+ de l'enfant</i>
Lymphome lymphoplasmocytaire	Leucémie/lymphome T de l'adulte (HTLV1+)
Maladies des chaînes lourdes	Lymphome T/NK extraganglionnaire, de type nasal
Tumeurs plasmocytaires	Lymphome T associé à une entéropathie
Lymphome de la zone marginale extraganglionnaire du MALT (lymphome du MALT)	Lymphome T hépatosplénique
Lymphome de la zone marginale ganglionnaire	Lymphome T sous-cutané de type panniculite
Lymphome folliculaire	Mycosis fongoïde
<i>Lymphome primitif cutané centro-folliculaire</i>	Syndrome de Sézary
Lymphome à cellules du manteau	Syndromes lymphoprolifératifs T CD30+ primitifs cutanés
Lymphome diffus à grandes cellules B	<i>Lymphomes T primitifs cutanés, de sous-type rare</i>
<i>Lymphome B à grandes cellules riche en c. T/histiocytes</i>	<i>Lymphomes T primitifs cutanés gamma-delta</i>
<i>Lymphome B à grandes cellules du SNC</i>	<i>Lymphomes primitifs cutanés agressifs</i>
<i>Lymphome B à grandes cellules primitif cutané, de type jambe</i>	<i>épidermotropes CD8+ cytotoxiques</i>
<i>Lymphome B à grandes cellules EBV+ du sujet âgé</i>	<i>Lymphomes primitifs cutanés CD4+</i>
<i>Lymphome B à grandes cellules associé à une inflammation chronique</i>	Lymphomes T périphériques sans autre précision
Granulomatose lymphomatoïde	Lymphome T angio-immunoblastique
Lymphome B à grandes cellules du médiastin (thymique)	Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK+
Lymphome B à grandes cellules intravasculaire	<i>Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK-</i>
<i>Lymphome B à grandes cellules ALK+</i>	

<p>Lymphome plasmablastique</p> <p>Lymphome B à grandes cellules associé à une maladie de Castleman multicentrique HHV8+</p> <p>Lymphome primitif des séreuses</p> <p>Lymphome de Burkitt / leucémie de Burkitt</p> <p><u>Lymphome B, inclassable, avec aspects intermédiaires entre L. B à grandes c. et Burkitt</u></p> <p><u>Lymphome B, inclassable, avec aspects intermédiaires entre L. B à grandes c. et Hodgkin</u></p>	
---	--

Les entités *en italique* sont des entités provisoires.

Les entités les plus fréquentes sont surlignées en caractères **gras**.

Les nouvelles entités sont soulignées.

I.3.2.1. Epidémiologie

L'incidence des LNH augmente régulièrement et est passée en vingt ans d'environ 8,5 à 16/100 000 dans les pays développés. Ils représentent environ 4,5 % des affections malignes. Le sex ratio H/F est de 1,5/1. L'âge médian de survenue est aux alentours de 62 ans même s'il existe des formes particulières qui surviennent préférentiellement chez l'enfant et chez l'adulte jeune (lymphome lymphoblastique et lymphome de Burkitt) (Antoine, 2006).

Certains facteurs étiologiques sont clairement identifiés mais ne concernent qu'une petite minorité des LNH :

- immunodépression sévère congénitale ou acquise (SIDA, traitement immunosuppresseurs pour greffe d'organe) ainsi que diverses pathologies auto-immunes.
- forte incidence de LNH de Burkitt dans certaines régions d'Afrique associée à l'endémie paludéenne et à l'exposition précoce au virus d'Epstein-Barr (EBV). Ceci ne concerne pas les cas européens des LNH de Burkitt.
- Lymphome/leucémie T associée à un rétrovirus, l'HTLV1, surtout décrit au Japon et dans les Caraïbes, exceptionnel en Europe.
- Rôle favorisant de l'infection chronique gastrique par *helicobacter pylori* dans la survenue à ce niveau de LNH du MALT (mucosae associated lymphoid tissue).

L'augmentation régulière de l'incidence des LNH fait soupçonner, sans preuve décisive pour l'instant, le rôle des facteurs environnementaux (pesticides agricoles, dérivés de l'industrie chimique et pétrolière) (Antoine, 2006).

I.3.2.2. Diagnostic clinique

Les LNH sont extrêmement variables dans leur symptomatologie en fonction du type histologique et de son histoire naturelle propre et en fonction des différents sites anatomiques d'atteintes possibles. Nous décrivons les tableaux les plus caractéristiques dans le cadre de 2 grands types les plus fréquents : lymphomes de bas grade et lymphome de haut grade, puis nous décrivons rapidement quelques situations particulières (Faure, 2000) :

a. LNH de bas grade

Le signe le plus fréquent est l'existence d'adénopathies périphériques, indolores, souvent multiples, lentement progressives, avec parfois des épisodes de régression spontanée transitoire. Toutes les aires ganglionnaires peuvent être atteintes mais les adénopathies cervicales sont les plus fréquentes. Les signes généraux B ou une atteinte extra ganglionnaire sont peu fréquentes initialement mais apparaissent souvent en fin d'évolution. Une splénomégalie est présente dans environ 40 % des cas, rarement isolée.

b. LNH « agressifs » (de grade intermédiaire et de haut grade)

La présentation clinique est plus variée. Si la majorité des cas se manifestent par une poly adénopathie, plus d'1/3 se révèlent par une manifestation liée à une atteinte extra ganglionnaire. Les signes généraux B sont présents au diagnostic dans environ 40 % des cas.

Le diagnostic ne peut être fait, sauf rares exceptions, que sur l'examen histologique d'une adénopathie ou d'un site extra ganglionnaire envahi. Le prélèvement devra systématiquement être réalisé dans des conditions permettant de réaliser également des techniques complémentaires (immunomarquage, cytogénétique, biologie moléculaire) qui sont indispensables à une caractérisation précise du type de LNH.

c. LNH transformés

Une évolution d'un LNH de bas grade vers un LNH de haut grade survient chez 30 à 60 % des patients au cours de l'évolution de LNH de bas grade. Ceci s'accompagne d'une évolutivité clinique plus rapide et doit être confirmée par une nouvelle ponction biopsique.

I.3.2.3. Classifications histo-pronostiques des LMNH

Après la classification de Rappaport, la plus ancienne, celle de Kiel, Lukes et Collins, celle de REAL, la classification de l'OMS (Annexe I) faisant suite à la classification « REAL » est largement fondée sur l'analyse phénotypique et moléculaire découlant en partie de travaux sur la différenciation des cellules B et T normales (Russano *et al.*, 2009).

I.3.2.4. Facteurs pronostiques

On note ici des facteurs pronostiques essentiels, majeurs, et biologiques (Lefrère et Trébucq, 2008) :

a. L'extension de la maladie

C'est un facteur pronostique essentiel, on utilise la même classification d'Ann Arbor que dans la maladie de Hodgkin (cf supra) qui est cependant moins bien adaptée. Une atteinte extraganglionnaire est à rechercher systématiquement, tout particulièrement une atteinte ostéo-médullaire par biopsie et pour les LNH agressifs une atteinte méningée par étude du LCR.

b. Le type histologique

C'est un facteur pronostique majeur. Certains types de LNH de bas grade peuvent avoir une évolution tranquille pendant des années avec un traitement minime ou sans traitement. A l'opposé certaines formes de LNH agressifs mettent en jeu le pronostic vital à très court terme et nécessitent un traitement « en urgence ».

c. Facteurs pronostiques biologiques

Les lacta-déshydrogénases (LDH) sont ici le principal critère : tout se passe comme si leur taux reflétait la masse et l'évolutivité des lésions. Il s'agit d'un paramètre agissant comme une variable continue mais en pratique on classe entre taux de LDH inférieur ou supérieur à la normale. La beta microglobuline sérique $\beta 2m$ est aussi un bon reflet de la masse tumorale, notamment pour les LNH de bas grade, mais n'est pas utilisée en pratique clinique.

I.3.2.5. L'index pronostique international (IPI)

L'IPI a été mis au point pour les LNH agressifs. Il utilise 5 critères simples pour définir des sous groupes de pronostic distincts, à traiter de manière homogène. Les 5 critères retenus sont (Thyss, 2006) :

- l'âge (≤ 60 ans versus > 60 ans)
- les LDH ($\leq N$ vs $> N$)
- la « *performance status* » reflétant l'état général (0-1 vs 2-4)
- le stade d'Ann Arbor (≤ 2 vs > 2)
- le nombre d'atteintes extra-ganglionnaires (≤ 1 vs > 1)

Cet IPI apparaît également utilisable pour les LNH de bas grade et dans certaines variétés particulières de LNH.

I.3.2.6. Bilan lors du diagnostic

Lors du diagnostic d'un LNH les examens suivants seront à réaliser (Antoine, 2006) :

a. Examen clinique

- Un examen précisant notamment l'existence, le site et la taille précise des adénopathie(s) périphérique (s), d'une splénomégalie, d'une hépatomégalie.
- La recherche de la présence de signes généraux : fébricule persistant, sueurs profuses, amaigrissement de plus de 10 %.
- Recherche de signes compressifs (œdèmes) ou d'atteinte du système nerveux central (paralysie des paires crâniennes par exemple).

b. Examens biologiques

- hémogramme à la recherche d'une cytopénie par envahissement médullaire ou de la présence de cellules lymphomateuses circulantes.
- biopsie osteo-médullaire iliaque a la recherche d'une infiltration médullaire.
- dosage de LDH.
- dosage de la beta 2 microglobuline sérique pour les LNH de bas grade.
- sérologie VIH, de principe, en raison de l'association possible infection VIH/LNH.
- examen du LCR en cas de forme histologique particulière a haut risque d'atteinte du SNC ou de signe neurologique.

c. Imagerie

- bilan des adénopathies profondes par tomodensitométrie thoracique et abdomino-pelvienne. L'échographie peut être un appoint pour les aires ganglionnaires périphériques ou peut parfois être suffisante pour le bilan rétropéritonéal chez l'enfant ou les sujets minces.
- imagerie orientée complémentaire, en fonction du tableau clinique.
- endoscopie oesogastrique en cas d'atteinte de la sphère ORL (anneau de Waldeyer) en raison de la fréquence de l'association des atteintes gastriques a une atteinte ORL.
- comme pour la MH, la scintigraphie au 18 FDG couplée a la tomodensitométrie (TEPTDM) est un examen récent qui permet un bilan d'extension très complet. Sa place exacte n'est pas encore définie. La fixation des lésions paraît plus intense dans les LNH de haut grade que dans ceux de bas grade.

Chapitre II : Matériel et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective, histologique et immunohistochimique réalisée sur des patients présentant le lymphome Hodgkinien et le lymphome non hodgkinien.

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique au C.H.U Hussein Dey d'Alger pendant 3 mois.

II.1. Matériel biologique

Selon la localisation du lymphome, des fragments tissulaires biopsiques comportant des lésions tumorales malignes, et des pièces d'exérèse chirurgicale totale ou partielle sont utilisés dans notre travail.

Pour les ganglions lymphatiques, une biopsie exérèse est recommandée car les fragments tissulaires sont souvent si petits que l'architecture du lymphome peut ne pas être analysable (par ex. méconnaissance du caractère folliculaire d'un lymphome) et la quantité de tissu peut être insuffisante pour réaliser toutes les techniques d'immunohistochimie et de biologie moléculaire assurant un diagnostic précis. Par ailleurs, une biopsie simple peut être néfaste et donne un coup de fouet à la tumeur.

De toute façon, les recommandations internationales sont bien précises et en cas de localisation ganglionnaire, l'exérèse totale est indispensable. Pour la rate une splénectomie est nécessaire, car il risque d'une hémorragie.

II.2. Méthodes

II.2.1. Recueil des renseignements cliniques

Au cours de ce travail, une étude rétrospective a été développée à partir des fiches des malades recueillies uniquement des registres d'anatomopathologie. Cette étude a porté sur 40 patients atteints du lymphome Hodgkinien et un autre nombre similaire de patients atteints du lymphome non hodgkinien compris entre Janvier 2011 et Janvier 2013.

Les paramètres étudiés dans ce travail sont basés sur:

- Le sexe du patient,
- L'âge,
- Les signes cliniques,
- Le siège anatomique,
- Le type histologique.

Afin de déterminer le profil phénotypique de la prolifération tumorale, le matériel biologique est adressé au laboratoire d'Anatomie Pathologique dans sa totalité, à l'état fixé par immersion de l'échantillon ou de la pièce opératoire dans un flacon contenant du formol

(fixateur). La fixation est un temps important et conditionne l'interprétation, afin de réaliser une étude anatomopathologique qui comporte 02 étapes obligatoires.

II.2.2. Etude anatomopathologique

L'étude anatomo-pathologique comporte deux étapes primordiales :

II.2.2.1. Examen macroscopique

Au cours de l'examen macroscopique, les paramètres étudiés sont : l'aspect externe, la capsule, la taille, la couleur et la consistance de la tumeur. Des coupes en feuillet de livre pour examiner les différentes tranches de sections sont effectuées. (Pour le ganglion, il est nécessaire de le couper en deux en passant par le hile. Section du ganglion en tranches parallèles de 0,3 à 0,5 cm d'épaisseur environ, selon le grand axe du ganglion) afin de détecter les remaniements nécrotiques et hémorragiques (la pièce est éventuellement photographiée).



Figure 2 : adénopathie (photo originale).

II.2.2.2. Examen microscopique

L'examen microscopique comporte deux étapes :

a- Préparation des blocs de paraffine

Les prélèvements tissulaires sont disposés dans des cassettes en plastique portant le numéro d'identification correspondant au numéro de la pièce opératoire ou celui du prélèvement biopsique.

Ces cassettes sont ensuite plongées dans le fixateur (AFAA) à 10%, puis on réalise la déshydratation par un passage des fragments tissulaires dans six bains d'alcool éthylique de concentration croissante et par la suite l'étape d'éclaircissement qui s'est réalisée après un passage dans trois bains de xylène. L'imprégnation est effectuée à chaud dans deux cuves en

acier contenant de la paraffine liquéfiée. Le prélèvement est placé dans un moule et immergé de paraffine dissoute et c'est l'étape d'inclusion. Les différentes étapes sont détaillées au dessous :

- **Fixation**

Les cassettes contenant les prélèvements sont plongées dans le fixateur Alcool éthylique Formol Acide acétique (AFAA) à 10 %.

- **Déshydratation**

La déshydratation est réalisée par un passage des fragments tissulaires dans six bains d'alcool éthylique de concentration croissante (75°, 80°, 85°, 90°, et 95°). Chaque bain dure une heure, tandis que le cinquième et le sixième bain durent deux heures chacun.

- **Eclaircissement**

Après un passage dans trois bains de xylène durant cinq heures (deux bains de 1h30 chacun et le dernier de deux heures).

- **Imprégnation**

L'imprégnation est effectuée à chaud dans deux cuves en acier inoxydable et thermostatées (60°C) contenant de la paraffine liquéfiée. Chaque bain dure 1 heure de temps.

- **Inclusion**

Les étapes de l'inclusion sont comme suit :

- les moules sont préchauffés dans une console thermique (60°C).
- les fragments tissulaires sont placés et orientés dans les moules à moitié rempli de paraffine.
- les parties des cassettes marquées par le N° d'identification sont plaquées sur les fragments tissulaires suivit par le remplissage du moule avec de la paraffine dissoute.
- après le refroidissement des moules sur un plateau réfrigéré, les blocs sont décollés facilement et conservés au congélateur à température de 4°C jusqu'à la réalisation des coupes.

b- Préparation des lames et observation

Pour notre étude, on a récupéré les blocs qui correspondent aux patients de la série à partir des archives en se basant sur le numéro d'identification et on a réalisé les étapes suivantes :

- **Confection des coupes**

A cette étape on utilise un microtome rotatif qui nous a permis de débiter les blocs de paraffine en coupes de quelques microns à quelques dizaines de microns. Les forces de frictions entre couteau et bloc échauffent la paraffine et la mettent en surfusion, ce qui permet de coller les coupes les unes à la suite de l'autre : Ruban de 3 μm d'épaisseur.

- **Étalement sur lames**

Les coupes sont étalées à la surface d'un bain marie réglé à 46°C puis recueillies sur des lames gélatinées préalablement numérotées sur le bord rodé ou bien le numéro est gravé à l'aide d'un crayon diamant.

Après séchage, les lames sont placées dans une étuve à 60°C pendant une durée de 24 heures afin d'augmenter l'adhérence des coupes.

- **Coloration de routine a Hématéine Eosine**

La coloration des coupes est effectuée selon les étapes suivantes :

- Déparaffinage dans deux bains de xylène à 10 minutes chacun.
- Hydratation dans deux bains d'alcool 100° et 95° cinq minutes chacun.
- Rinçage à l'eau courante.
- Coloration dans deux bains d'hématoxyline, dix minutes chacun.
- Rinçage à l'eau courante 20 à 25 secondes.
- Un bain d'eau acidulée pendant 20 secondes.
- Rinçage à l'eau courante.
- Un bain d'eau ammoniacquée pendant 15 secondes.
- Rinçage à l'eau courante.
- Deux bains d'éosine pendant 30 secondes.
- Rinçage à l'eau courante.
- Déshydratation dans deux bains d'alcool 95° pendant une minute.
- Rinçage à l'eau courante.
- Deux bains de xylène pour l'éclaircissement.

- **Montage**

Les lames sont parsemées de quelques gouttes d'Eukit (monting Médium) et recouvertes de lamelles. La prise des photos est réalisée à l'aide d'une microphotographie.

- **Observation**

A l'aide d'un microscope photonique multi-têtes à différents grossissements (X100 ; X200 et X400) on a pu réaliser l'observation de nos lames. On s'est basé sur l'étude histologique, l'aspect des cellules, leur regroupement, la prolifération, la taille, le rapport nucléocytoplasmique et l'infiltration des tissu avoisinants. La classification de l'OMS propose de nouvelles entités basées sur l'analyse phénotypique, moléculaire et génétique. Cette classification est universellement adoptée par tous les services d'anatomie pathologique pour classer et typer les différents types de lymphomes.

- **Prise de photos**

Le microscope équipé d'un appareil photo numérique relié à un micro-ordinateur permis la prise des photos.

II.2.3. Etude immunohistochimique

a. Principe

Afin de déterminer le type histologique du lymphome nous utilisons l'expression des antigènes (CD20 et CD3 pour le LMNH ; CD30 et CD 15 pour le LH) par technique immunohistochimique (IHC). Nous avons sélectionné une méthode indirecte complexe « la streptavidine peroxydase », qui consiste à une amplification du marquage par un système de révélation qui peut fixer deux molécules de chromogène pour mieux visualiser le complexe AG-AC étant naturellement invisible. Le système révélateur est constitué d'un deuxième AC biotinylé lié à une molécule porteuse d'une enzyme qui est la streptavidine peroxydase, qui peut elle-même relier deux molécules de chromogène diaminobenzidine (DAB) (substrat). La réaction enzyme substrat dégage une coloration brunâtre visualisée sous microscope.

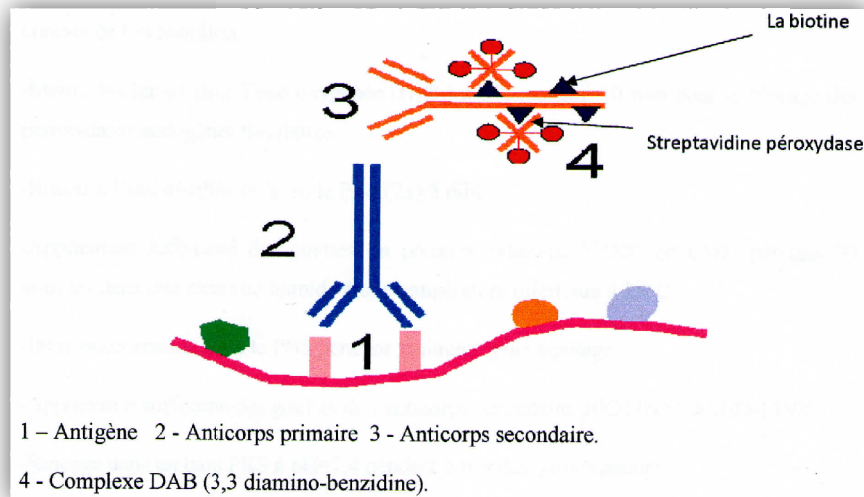


Figure 3 : principe de la technique immuno-histochimique (Anonyme, 2009).

b. Mode opératoire

• Préparation des lames

- Déparaffinage des lames par immersion successive dans le xylène deux fois pendant 5 minutes,
- Réhydratation dans l'alcool, 4 bains pendant 5 minutes pour chacun avec une concentration décroissante 100°, 95°, 90° et 70°C.
- Immersion des lames pendant 5 minutes dans l'eau distillée.
- Mettre les lames dans le bac de la solution tampon pH=6 pour le démasquage antigénique.
- Mettre le bac dans le bain Marie à 92° pendant 40 min.
- Refroidissement à l'air libre pendant 20 min.
- Rincer à l'eau distillée.

• Immunomarquage

- Les fragments déposés sur les lames ont été encerclés par un gel hydrophobe (Dako pen) pour empêcher les anticorps de diffuser sur toute la lame et surtout pour qu'il reste au contact de l'échantillon.
- Mettre les lames dans l'eau oxygénée (H_2O_2) à 3% pendant 10 min pour le blocage des peroxydases endogènes tissulaires
- Rincer à l'eau distillée ou avec le PBS (2x) 5 min.

- Application suffisante des gouttes du premier anticorps (CD20, CD3, CD30 ou CD15) pendant 30 minutes dans une chambre humide à une température inférieure à 25°C.
- Immersion ensuite dans le PBS pendant 5 minutes, puis tapotage.
- Application suffisante des gouttes de l'anticorps secondaire, BIOTINYLATED-LINK.
- Rinçage dans un bain PBS à pH=7,4 pendant 5 minutes, puis tapotage.
- Application suffisante des gouttes de réactif (STREPTAVIDINE-HRP) pendant 10 minutes.
- Rinçage dans le PBS pendant 5 minutes.
- Application suffisante du substrat chromogène DAB (3,3 diamino-benzidine) pour la révélation du complexe anticorps-antigène.
- Rinçage à l'eau distillée.
- Après le virage de la couleur brune entre 3 et 5 minutes, la coloration a été stoppée par immersion des lames dans un bac contenant de l'eau distillée pendant 5 minutes, puis tapotage.

- **Contre coloration a l'Hématoxyline**

- Les lames ont été incubées dans une solution d'hématoxyline de Marris pendant 5 minutes, puis elles ont été rincées dans un bain d'eau distillée.
- Trempage à dix reprises dans un bain d'eau ammoniacquée (0,037mol/l) pour clarifier les noyaux.
- Rinçage à l'eau courante pendant 5 minutes.
- Trempage dans l'alcool à 90°C puis à 100°C puis dans le xylène.

- **Montage et observation**

Après montage avec (DAKO FARAMOUNT, AQUEOUS), l'observation et la prise des photos ont été réalisées à l'aide d'un photomicroscope de type LEICA avec les grossissements XI00 et X400.

- **Lecture**

La coloration brune est évaluée comme indicateur de l'expression de CD20 qui marque les lymphocytes B et le CD3 qui est révélé sur les lymphocytes T.

Chapitre III :
Résultats et discussion