

Faculté de Pharmacie

Année 2024

Thèse N° 3315

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

le 30 avril 2024

Par

Sarah DECHEIVER

Mise en place de la détection de la monotypie du récepteur T par cytométrie en flux dans les syndromes lymphoprolifératifs T

Thèse dirigée par le Dr Sarah NASRADDINE

Examineurs :

M^{me}. Sylvie ROGEZ, PU-PH, Laboratoire de Virologie, CHU de Limoges

M^r. Jean FEUILLARD, PU-PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

M^{me}. Julie ABRAHAM, PH, Service d'Hématologie Clinique, CHU de Limoges

M^{me}. Jasmine CHAUZEIX, MCU-PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

M^r. David RIZZO, MCU-PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges



Faculté de Pharmacie

Année 2024

Thèse N° 3315

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

le 30 avril 2024

Par Sarah DECHEIVER

Mise en place de la détection de la monotypie du récepteur T par cytométrie en flux dans les syndromes lymphoprolifératifs T

Thèse dirigée par le Dr Sarah NASRADDINE

Examineurs :

M^{me}. Sylvie ROGEZ, PU-PH, Laboratoire de Virologie, CHU de Limoges

M^r. Jean FEUILLARD, PU-PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

M^{me}. Julie ABRAHAM, PH, Service d'Hématologie Clinique, CHU de Limoges

M^{me}. Jasmine CHAUZEIX, MCU-PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

M^r. David RIZZO, MCU-PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

Personnel enseignant de la Faculté de Pharmacie de Limoges

Le 1^{er} janvier 2024

Doyen de la Faculté

Monsieur le Professeur COURTIOUX Bertrand

Vice-doyen de la Faculté

Monsieur LÉGER David, Maître de conférences

Assesseurs de la Faculté

Monsieur le Professeur BATTU Serge, Assesseur pour la Formation Continue

Monsieur le Professeur PICARD Nicolas, Assesseur pour l'Innovation Pédagogique

Professeurs des Universités – Hospitalo-Universitaires

M. BARRAUD Olivier	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
M. PICARD Nicolas	Pharmacologie
Mme ROGEZ Sylvie	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
M. SAINT-MARCOUX Franck	Toxicologie

Professeurs des Universités – Universitaires

M. BATTU Serge	Chimie analytique et bromatologie
M. COURTIOUX Bertrand	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
M. DESMOULIÈRE Alexis	Physiologie
M. DUROUX Jean-Luc	Biophysique et mathématiques
Mme FAGNÈRE Catherine	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
M. LIAGRE Bertrand	Biochimie et biologie moléculaire
Mme MAMBU Lengo	Pharmacognosie

Mme POUGET Christelle Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

M. TROUILLAS Patrick Biophysique et mathématiques

Mme VIANA Marylène Pharmacie galénique

Maitres de Conférences des Universités – Hospitalo-Universitaires

Mme. CHAUZEIX Jasmine Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie

Mme DEMIOT Claire-Élise (*) Pharmacologie

M. JOST Jérémy Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

Maitres de Conférences des Universités – Universitaires

Mme AUDITEAU Émilie Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

Mme BEAUBRUN-GIRY Karine Pharmacie galénique

Mme BÉGAUD Gaëlle (*) Chimie analytique et bromatologie

M. BILLET Fabrice Physiologie

Mme BONAUD Amélie Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie

M. CALLISTE Claude Biophysique et mathématiques

M. CHEMIN Guillaume Biochimie et biologie moléculaire

Mme CLÉDAT Dominique Chimie analytique et bromatologie

M. COMBY Francis Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

M. FABRE Gabin Biophysique et mathématiques

M. LABROUSSE Pascal (*) Botanique et cryptogamie

Mme LAVERDET Betty Pharmacie galénique

M. LAWSON Roland Pharmacologie

M. LÉGER David (*) Biochimie et biologie moléculaire

Mme MARRE-FOURNIER Françoise Biochimie et biologie moléculaire

M. MERCIER Aurélien	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
Mme MILLOT Marion (*)	Pharmacognosie
Mme PASCAUD-MATHIEU Patricia	Pharmacie galénique
M. TOUBLET François-Xavier	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
M. VIGNOLES Philippe (*)	Biophysique et mathématiques

(*) Titulaire de l'Habilitation à Diriger des Recherches (HDR)

Professeur associé en service temporaire

M. FOUGÈRE Édouard	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
---------------------------	---

Assistant Hospitalo-Universitaire des disciplines pharmaceutiques

Mme MARCELLAUD Élodie	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
------------------------------	---

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche

M. DELMON Cédric	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
M. HAMION Guillaume	Pharmacognosie, Botanique et Mycologie
Mme SONDA Amar	Chimie analytique et bromatologie

Enseignants d'anglais

M. HEGARTY Andrew	Chargé de cours
Mme VERCELLIN Karen	Professeur certifié

Remerciements

Au **Professeur Sylvie Rogez**, je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse. J'en profite également pour vous remercier pour vos précieux conseils et pour votre soutien tout au long de mon DES de Biologie Médicale à Limoges.

Au **Professeur Jean Feuillard**, je vous remercie d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse jugeant ce travail des Sarah². Merci pour votre bienveillance et pour vos enseignements lors de mon passage dans votre laboratoire. Je suis impatiente de revenir dans votre service pour mon Doctorat Junior.

Au **Docteur Julie Abraham**, je suis heureuse de vous compter parmi ce jury de thèse. Merci d'avoir pris de votre temps et d'avoir apporté votre expertise à l'évaluation de ce projet.

Au **Docteur Jasmine Chauzeix**, je te remercie d'avoir accepté mon invitation à ce jury de thèse, cela est un grand plaisir pour moi. Un grand merci pour ta gentillesse et ta disponibilité à toutes mes questions de validation. Je retiendrai aussi tes talents de chanteuse pour essayer de convaincre Sarah de ne pas retourner au soleil mais, le soleil et la mer ont été malheureusement plus fort.

Au **Docteur David Rizzo**, je te remercie d'avoir répondu présent pour l'évaluation de ce projet de thèse. Je te remercie chaleureusement pour tes enseignements, ta disponibilité et surtout pour ta gentillesse. Merci d'avoir toujours pris de ton temps pour répondre à mes questions y compris celles qui arrivaient un peu plus tardivement que les autres. Enfin, j'ai appris il n'y a pas très longtemps que j'avais, un peu malgré moi, perpétué une tradition réservée aux Sarah, qui consiste à « attraper » des suspicions de TIH avec toi et surtout de découvrir un vendredi soir, non pas une mais deux valeurs positives sur l'AcuStar.

Au **Docteur Sarah Nasraddine**, ou Chef pour les intimes, je tenais à te remercier sincèrement d'avoir accepté de m'accompagner tout au long de cette aventure. D'avoir été à la fois soutien moral, référent maquette/CV/lettre de motivation, *ping-pong*euse de thèse (ça existe depuis aujourd'hui), influenceuse make-up (comme le savent les initiés aux *unboxing* de Sarirah make-up 🧴) et tellement plus au fil des vocaux (parce que 6 minutes c'est une bonne moyenne) et des années. On dirait bien que la boucle est bouclée. Tu es la personne qui m'a convaincu de venir à Limoges, la personne qui a mis du soleil dans ma grisaille limougeaude et celle qui m'a guidé pour aboutir à la rédaction de ce manuscrit *made in Sarah*². Un très très grand merci.

Je souhaite également remercier l'ensemble du **secteur de cytométrie à flux** qui m'ont accompagné tout au long de ce projet. Merci à **Christelle, Patricia, Stéphane et Aymane** pour votre accueil, vos précieux conseils et votre bonne humeur. Merci d'avoir pris le temps de me montrer les rouages de la CMF. Un grand merci à toi aussi **Robin**, l'ingénieur de CMF volant (enfin doucement sur le volant, on sait ce qui se passe après), merci pour ton aide précieuse, tes conseils en termes de compensation et surtout pour ta gentillesse et ta bienveillance. Sans oublier mes chaleureux remerciements au **secteur de biologie moléculaire** qui a également participé à ce projet de thèse. Merci infiniment à vous **Virginie, Adélaïde, Marjorie** (et son pot de Nutella), **Mélanie et Marie-Candys**. Merci pour votre aide, votre gentillesse et votre bonne humeur contagieuse. J'en profite également pour signaler que je n'ai toujours pas eu le privilège de goûter ce fameux roulé au Nutella que tu m'as promis Marj', je dis ça, je dis rien.

Au **Dr Estelle Guerin**, l'instigatrice de ce projet qui avait, avant de partir pour de nouvelles aventures, commencé à l'imaginer, j'espère que tu seras satisfaite du travail que nous avons accompli avec Sarah. Un grand merci pour tes enseignements et ta bienveillance lors de mon passage au laboratoire d'Hématologie.

Au **Dr Magali Donnard**, merci pour avoir partagé avec nous vos connaissances et de nous avoir initié à la complexité de l'hémostase.

Au **Dr Franck Trimoreau**, un grand merci pour votre gentillesse ainsi que pour ces nombreuses heures passées avec vous autour d'un microscope à nous transmettre votre passion pour les cellules et la cytologie.

Au **Dr Nathalie Gachard**, un grand merci pour votre gentillesse et pour m'avoir fait confiance avec votre base de données de patients DDX41 pour que j'y apporte ma petite contribution et incrémente mes connaissances sur le sujet.

Au **Dr Marine Dupont**, un grand merci pour ta gentillesse, ta disponibilité et ton aide précieuse, que ce soit en Hémato, en BVH ou au CDP par la suite.

Je tiens également à remercier l'ensemble des **biologistes et techniciens** qui m'ont accompagné et m'ont tant appris tout au long de mon aventure limougeaude aussi bien en Biochimie, en Hématologie, en Pharmacologie-Toxicologie, en Bactériologie, Virologie & Hygiène qu'en Immunologie.

- A la **Biochimie** : un grand merci à l'ensemble des biologistes, le **Pr Franck Sturtz**, **Dr Thierry Chianea**, **Pr Frédéric Favreau**, **Dr Yasser Baaj**, **Dr Marie-Agnès Costa** et des techniciens **Marina**, **Mylène**, **Thomas**, **Marianne**, **Yves**, **Manon**, **Céline**, **les 2 Claires**, **Florence** et **tous les autres** pour votre gentillesse et pour m'avoir guidé tout au long de ce premier stage d'internat à vos côtés. Un grand merci aux **Dr Pierre-Antoine Faye** et **Dr Pauline Chazelas** pour votre aide et votre confiance, j'espère que notre projet 🦋 recevra prochainement un retour favorable. Pour finir, je souhaiterais également remercier les techniciens de nuit **Christelle et Fabrice** pour leur gentillesse, leur bienveillance et pour ces supers moments passés en votre compagnie.
- A l'**Hématologie** : mes plus chaleureux remerciements vont aux techniciens du plateau (ou plutôt du « platal » comme dirait une certaine personne), un grand merci aux **filles d'hémostase Hilal**, **Andréa**, **Manon** et **Delphine** pour votre constante bonne humeur en témoignent les nombreuses blagues que vous avez imaginées et exécutées le plus souvent à nos dépens ; la **team cytologie Marlène**, **Sylvie**, **Élodie**, **Clément** et **Lucile** merci pour votre gentillesse et pour finir *the last but not the least* un grand merci à la **cytogénétique Mélanie**, **Virginie**, **Alexia** et **Catherine** pour votre gentillesse, votre bonne humeur et votre bienveillance et également pour m'avoir appris à classer des chromosomes (enfin essayé, par ce que franchement ce sont presque tous les mêmes, on est d'accord ?). Et non **Mélanie**, ce n'est pas moi qui retarde tous les trains Limoges-Paris.
- A la **Pharmacologie-Toxicologie** : je souhaite remercier tout particulièrement l'**équipe de choc de Toxico** avec laquelle j'ai eu la chance de travailler, **Samia**, **Estelle**, **Denis**, **Josiane**, **Caroline** (et non je ne suis pas vraiment une délinquante) et **Delphine**. Merci au **Dr Souleiman El Balkhi**, tes journées doivent être plus tranquilles depuis que je ne viens plus te déranger 4 fois par jour. Je tenais à te remercier pour ton aide plus que précieuse concernant mes très nombreuses questions et ta bienveillance ;

au **Pr Franck Saint-Marcoux** je vous remercie pour vos enseignements ; au **Dr Marc Labriffe** merci pour ta gentillesse et ton aide infaillible tout au long du stage ; un grand merci au **Dr Caroline Monchaud, Dr Sylvain Couderc, William, Damien** (pour sa bonne humeur en garde), **Sylvain D., Naïma, Arnaud et à tous les autres** pour votre aide et votre bonne humeur. Pour finir, un énorme merci à notre maman caneton, **Charlène**, pour ta patience et ta gentillesse en toute circonstance.

- A la **Bactériologie, Virologie & Hygiène** : je tiens à remercier l'ensemble des biologistes le **Pr Marie-Cécile Ploy, Pr Olivier Barraud, Dr Fabien Garnier, Pr Sébastien Hantz, Dr Sylvain Meyer, Pr Sophie Alain, Dr Aurélie Chabaud, Dr Nadia Hidri** et tous les autres, j'ai appris énormément à vos côtés et ce n'était pas gagné au départ au vu de mon incompatibilité avec les micro-organismes. Un grand merci tout particulièrement à toi Nadia pour ta gentillesse et pour avoir partagé tes connaissances immenses avec moi. Je souhaite remercier aussi tous les techniciens du service **Amélie, Marie, Sophie, Gaele, Aurélie, Karine, les Émilie, Marion et tous les autres** pour votre patience, votre bonne humeur et votre gentillesse.
- A l'**Immunologie** : un grand merci au **Pr Marie-Odile Jauberteau** pour votre gentillesse et vos enseignements sur le sujet de l'auto-immunité qui vous passionne et cela se ressent ; au **Dr Guillaume Olombel**, merci pour tes enseignements et pour ta disponibilité tout au long du stage ; au **Dr Virginie Pascal et Dr Matthieu Filloux** pour votre gentillesse et le partage de vos connaissances. Je tiens également à remercier **Stéphane et Alexandre** pour votre bonne humeur quotidienne et vos petites piques bien placées. Tu vois Stéphane, tu as ici la preuve que je travaille, parfois ; **Angélique, Alice, Benjamin et Isabelle** qui a mise en évidence que mon chiffre fétiche était le 12, en rapport au nombre d'IFIX ajoutés certains jours. Maintenant que je suis partie le nombre d'ajout d'IFIX va pouvoir retrouver son niveau basal ; **François**, ta gentillesse et le partage de tes connaissances sans limite a su m'accompagner tout le long du stage, je t'en remercie ; **Jeanne**, merci pour ta bonne humeur et ton rire contagieux ; **Amandine, Lisa et Lakhdar**, un grand merci pour votre gentillesse et votre bonne humeur ; sans oublier le **Dr Ahmed Boumediene** et toute l'**équipe du HLA**.

Je souhaite également remercier toutes les personnes qui nous ont guidé et formé à la **RCL**, merci à vous, **Coline, Xavier, Marie, Béa, Karine et tous les autres** pour votre bonne humeur.

A ma petite **Marie-Françoise** merci infiniment pour ta bonne humeur, ton humour et ta bienveillance. Ce qui a commencé par une livraison de colis s'est développé en un belle complicité. Je n'oublie pas de t'envoyer des updates réguliers sur la pousse de Marie-Thérèse sous le soleil toulousain.

Un énorme merci aux **infirmières et infirmiers du CDP, Sandra, Valérie, Myriam, Laurence, Anita et Stéphane** pour votre patience et votre aide précieuse à la réalisation de mes 40 prises de sang mais, également pour votre gentillesse et votre bonne humeur.

Pour finir, quelques mots pour remercier **David et Carole**, toujours présent avec le sourire et la bonne humeur. Votre gentillesse n'a pas d'égal, un grand merci à vous.

A ma famille,

Je souhaite témoigner mon immense reconnaissance à mes **parents** qui ont toujours su m'encourager, me reconforter et me sentir aimée. Votre soutien sans faille m'a toujours accompagné et m'a permis d'entreprendre et de réaliser mes rêves et mes aspirations pour devenir la femme que je suis aujourd'hui. Je vous aime ❤️.

A ma très chère **Maman**, ton amour et tes bons petits plats qu'ils soient partagés à la maison ou dans un congélateur à plusieurs centaines de kilomètres de toi, n'ont cessé de me reconforter toutes ces années. Un grand merci pour tous ces merveilleux souvenirs et pour tous ces moments qu'il nous reste encore à partager (les cascades en moins s'il te plait).

A mon petit **Papa**, plombier, électricien, réparateur et conseillé automobile préféré. A ton humour inimitable et à nos longues heures passées à écouter et découvrir de nouveaux (ou pas si nouveau) morceaux. Merci d'être celui qui m'encourage et me soutien dans l'ombre.

A mes **grands-parents** qui ne peuvent pas être présent pour cette journée si particulière, je pense fort à vous ❤️.

A ma **Tante, Michelle, Bernard, Jean-Michel, Stéphanie, Marion et Émilie, mes oncles et tantes** merci pour ces délicieux souvenirs d'enfance salés et pleins d'embruns sous le soleil des Landes ☀️. A mon **Coco**, le frère dont je ne voulais pas mais dont je ne pourrai pas me passer, ton rire et les merveilleux souvenirs que nous partageons immortalisés avec son objectif par Maman aussi bien sur le perron de chez Mamie ou sur les pistes de Saint-Lary ont mis du soleil dans la grisaille limougeaude.

A mon **tonton Pierre**, depuis le moment où j'ai chaussé des skis 🏂 pour la première fois, au moment où tu m'as donné mon premier cours (et tous ceux qui ont suivi par la suite), à ma première paire de ski et à nos innombrables chocolats chaud, je voulais te dire merci pour tous ces merveilleux moments partagés avec toi et tous ceux à venir.

Pour finir, à **Christine**, qui m'a vu grandir ainsi qu'à **Karine et Manu**, merci de venir jusqu'à Limoges pour m'encourager et me soutenir. Cela me touche beaucoup.

A mes ami(e)s,

A ma toute première rencontre limougeaude, ma **petite Shasha** ou pour les plus initiés La Shan 🍷, ma testeuse de restaurants, brunchs et salons de thé, ma partenaire de concerts, de squash, de Brive Festival, de cartes postales, de week-ends, de vacances et d'aventures en tout genre, je n'aurais pas pu imaginer une meilleure personne pour partager mon internat à Limoges. Et même si tu prononces week-end « uik-end », que le terme dialyse et bien... ne ressemble plus à de la dialyse (je sais même pas comment je peux l'écrire), un comble pour une néphrologue et que tu nous sers du « entre midi » à chaque pause déjeuner j'espère (c'est une certitude désolé mais, tu es coincé avec moi) que l'on partagera encore de magnifiques moments à Toulouse, Paris et dans nos nouvelles destinations (le réveil salé en moins).

A mes **GP Girls** 🦋💖🌱, vous mettez toujours un peu plus de folie dans mon quotidien Limougeaud. A la pétillante **Marine**, ta joie de vivre et ton énergie ne sont jamais bien loin même si tu es un peu exilée sur ton île ce semestre. A notre **Dark Laurène** qui ne cesse de nous surprendre et met toujours plus de paillettes bleues (biodégradables s'il vous plait) dans nos couvertures GP. A mes **berlinoises** préférées 🥨, je crois bien que je n'ai jamais autant ri (et manger on va pas se mentir) pendant 5 jours 🤪. A la douce mais imprévisible **Abetare**, tu es le calme avant la tempête, tous aux abris si le feu kosovar est libéré car ton humour n'épargnera personne. A mes **sardines Sardes** qui zinzembre mes soirées 🍋, à la seule et unique **Zulie** avec qui nous avons partagé tant de pistaches et de citrons (je parle des fruits bien évidemment) mais également de brunchs (et surtout le plus important... des restes de brunch), des paillettes, des vidéos de bébé chiots, de corgis et de bébé corgis. Merci d'embellir ma vie à coup de zestes de citron acidulés. Pour clôturer cette belle brochette, comment ne pas parler de celle qui nous lie toutes, notre Oreo Girl qui le vaut toujours bien, notre **Saoussane** adoré. Le rayon de soleil qui vous réchauffe le cœur en un éclat de rire mais aussi et surtout grâce à sa gentillesse. Nous avons échangé pas mal de sel tout au long des Chroniques de Saousserthon et tellement de fou rire aussi, merci de n'être jamais bien loin malgré ta train-ite aigüe (mais je ne parlerai pas de Vierzon, ici, ce n'est pas le sujet). Pour satisfaire ton côté littéraire (et de dévoreuse de livre), je terminerai avec cette phrase de Sénèque. « La vie, ce n'est pas d'attendre que les orages passent (et tu sais de quoi je parle), c'est d'apprendre comment danser sous la pluie. » Et bien, j'ai trouvé grâce à toi de magnifiques personnes pour danser sous la pluie.

A mes **Comètes** 🌠, et dire que tout à commencer au 2^e étage de l'internat, pour se poursuivre dans un trio VP Com à imaginer des affiches toujours plus originales et finalement conduire sur une super amitié pleine de couleurs, de shopping et de belles soirées. Merci d'être des Comètes de choc, toi **Lucia** avec tes punchlines pleines d'humours et toi **Elora** avec ta sportivité légendaire et toutes ces belles qualités que vous possédez.

Au **reste de la famille Pradère** (depuis 1996) vous êtes des fous mais je vous adore. A **Lise**, ma partenaire de soirée (parce que 6h du mat' c'est pas si tard) avec qui c'est tellement plus drôle de visiter le musée de la porcelaine et à **Mika** pour toutes ses fausses notes lors de nos karaokés Disney et pour ton humour quelque peu décapant. Sans oublier la dernière addition à nos brunchs, **Cacahuète** tu te reconnaîtras, merci de nous avoir accompagné dans le mois infernal des thèses avec humour et bonne humeur... tu es le prochain 🤝.

A mes deux petits 🧠, toi **Héloïse** ma partenaire de squash intransigeante mais, tellement douce et gentille une fois les raquettes au placard et toi la lumineuse **Charlotte** avec qui les potins et les fous rires n'ont qu'à bien se tenir. Je vous adore les bombasses.

A toutes ces belles rencontres à l'internat, nos organisatrices de soirées hors paires la pétillante **Laura** et la lumineuse **Audrey** (sans oublier **Cyril**), les irréductibles **Juju** 🦄 et **Cédric, Dom, MH, Victor, Manon, Jade, Marie, Clem et Paul, Laura, Alix, Ophélie, Scott, Théo et les autres** pour tous ces bons moments, ces repas, ces soirées... que l'on a passé ensemble dans notre nouvelle maison qu'était l'internat et à tous ceux qui ont suivi depuis.

Aux inimitables **plaquettes en amas** qui ne s'agglutinent jamais trop loin les unes des autres (en tout cas, pas très longtemps). Le hasard a tellement bien fait les choses en nous réunissant dès le début de notre internat dans une ambiance avec une cohésion de groupe incroyable (grâce à **Tom/Léo** bien évidemment). A ma petite **Nini** 🐰, toujours heureuse et pleine de douceur sauf lorsque 12h arrive et que l'hypoglycémie se fait sentir. A nos excursions plages, escape game, shopping (et nos razzia chaussure chez Repetto), goûter (bien évidemment) et tant d'autres. Tu es la seule et unique personne à avoir réussi l'exploit de me faire courir 5 km sous la pluie et ce n'était même pas pour des chaussures. Merci pour tous ces magnifiques moments et pour tous ceux qui reste à venir. A notre Carcassonnaise préféré, toi dont l'accent me fait sentir à la maison, notre **Manouz** 🐱 qui nous a abandonné pour le 3^e étage. Merci pour ces nombreux moments de rigolade à la plage, au ski ou à Limoges, pour ces anecdotes sur tes mésaventures (et nous savons qu'il y en a un grand nombre), pour tous ces objets égarés (ou trop bien rangés) à retrouver mais aussi pour avoir transformé nos placards à interne en placard à Manon. Enfin, à **Tom** et à ma superbe salade en pot, on aura bien rigolé à tes dépens. Et parce que ce n'est pas facile de cohabiter dans un bureau avec 3 puis 4 filles, tu as bien mérité tes 3 lignes de remerciements dans cette thèse j'ajouterai un grand merci pour ton aide en bactério et pour ces incroyables valides de viro, très qualitatives.

A mes **Rgirls** 🍌, **Florence** et la **Queen Cicy**, nous partageons depuis ce jour où nous nous sommes retrouvées dans le même bureau, une passion certaine pour R Studio. Bon heureusement, on en partage aussi d'autres... notamment les cookies, la moussaka, la fête et toutes ses bonnes choses qui ont fait que nous avons passé de supers moments pendant ses longs mois d'hiver. Cependant, je ne peux pas parler des Rgirls sans les **très célèbres regards dont Cicy à le secret** et qui te font réaliser instantanément que oui tu as oublié le téléphone et que non ce n'est pas ta standardiste personnelle. Tu nous auras bien fait rigoler Cicy. Un grand merci également à **Dorian** qui ne sait pas dire non (même si on a essayé) et dont la gentillesse n'a pas d'égal ainsi, qu'à **Pauline**, ma référente médico-légal dont les nombreuses anecdotes loquaces, les points nécrologie de La Dépêche et les ateliers couture ont ponctué cette nouvelle expérience.

A la **team BVH, Emilien** (le dompteur de tique professionnel), les parisiennes de retour en province **Alix et Marie-Sarah, Francky** qui n'aime pas perdre contre Manon au baby, **GusGus**, le petit 2000 de la bande et notre chasseuse de catastrophes naturelles en série, **Ines**, merci d'avoir fait de moi, à mon insu bien évidemment, une supportrice de *baby-foot* et de m'expliquer encore les règles à chaque pause déjeuner. Et aussi à notre super externe de choc, **Amélie**, qui depuis est devenue grande.

A la **team immuno, aka. Electrogirl, Timothy Grass et La pro de la moucheture**, merci d'avoir eu la patience de me supporter ce semestre. On aura bien rigolé dans ce petit bureau, avec nos bouts de table et nos chaises pliantes. A **Séléna**, on se retrouve ton K-way marinière, tes bottes en caoutchouc et ton sous-sol pour des aventures toulousaines le 2 mai et à **Timothy**, notre cahier des allergènes sur pâtes grâce à toi, je peux voir tous les jours que mes allergies sont présentes toute l'année, merci (je le savais déjà 😊). Tu vas enfin pouvoir

retrouver ta tranquillité sans nous, ta toux chronique et ton dacryoserum, envoi-nous de tes nouvelles pour que l'on s'assure que toute la petite famille survive à un nouvel hiver.

A mes **autres co-internes**, avec qui je n'ai pas eu la chance de partager de stage mais, nous nous sommes quand même rattrapés pour partager de supers moments. A **Chieu-An**, notre it-girl parisienne ; les toulousains en exil **Sami et le Tibs** ; **Chloé**, la douce grenobloise avec qui nous affrontons tous ces mangeurs de viande ; **Ludivine** l'aventureuse volante ; ma petite pyrénéenne que j'ai vu grandir, **Charlotte** ; **Dark Lulu** dont la réputation le précède ; **Lucie**, avec qui nous partageons une aventure 🦀 qui ne s'apparentait pas à un roman photo sur nos dernières vacances, mais une expérience pas toujours de tout repos. Merci pour ton aide, ton soutien infailible et pour m'avoir fait réaliser qu'au final, je ne suis pas celle qui râle le plus même si je me défends plutôt bien ; **Candice** avec qui je partage le talent certain de parler sans réfléchir merci de me faire sentir un peu moins *boulet* dans ces situations 😊 ; **Cassandra**, merci pour ta gentillesse et tes bon conseils, a notre futur partage de bureau ; **Maxime**, merci pour ta gentillesse et ton aide toujours précieuse.

A vous mes **fiers chevaliers toulousains** et votre groupe qui change de nom plus vite que son ombre et à une notification par seconde en heure de pointe, sur le périph. Vous m'avez fait me sentir un peu moins limogée si loin de Toulouse avec vos blagues, pas toujours de très bon gout, mais ça c'est **Nico**, cela explique beaucoup si ce n'est tout. A **Benji** 🦉 et son rire communicatif, qui ne peut malheureusement pas être retranscrit par message mais qui apporte réconfort autour de soi. A **Matthieu** et sa force tranquille qui affronte la tempête Justine au quotidien et la suit dans toutes ses aventures (qui finisse rarement sans égratignures, il n'y a qu'à observer sa voiture). Mais aussi à **Vincent**, la 2^e addition au package, toujours tapi dans l'ombre à l'affût de la moindre opportunité d'être impitoyablement drôle, merci d'être aussi divertissant (un peu moins lorsque c'est à mes dépends). A **Bryan** et à sa répartie qui arrive toujours à point. A **Camille** notre terreur des vigiles, **Antoine** le barista de l'extrême au milieu de tous amateurs de thé, la douce **Marion**, **Rima** notre danseuse attirée et **Blandine** la 2^e limogée. Vous tous que j'ai surtout appris à connaître à travers ce groupe, un grand merci pour m'avoir laissé vous découvrir avec votre gentillesse, votre bonne humeur et vos chamailleries. Je suis impatiente de poursuivre cette découverte et surtout de rencontrer tous les personnages de l'ombres pour lesquels chaque interventions sont historiques.

Pour compléter cette joyeuse bande, il ne manque plus que mes triplés, mes 2 tiers restant, **Madaulette** 🐱 et **FloFlo** 🛎 avec lesquelles les révisions du concours ressemblaient plus à de la rigolade qu'à du travail (malgré nos séances quotidiennes d'exercices matinaux) sans oublier quelques pauses shopping. Nous sommes parties à la conquêtes de Rungis puis, nous avons ensuite chassés les coups de soleil 🌞 à la plage et plus récemment les gelati romaines et florentines avec un certain nombre de péripéties qui sont devenues notre marque de fabrique pour des moments magiques et inoubliables. A nos (très) prochaines conquêtes !

Avec les années pharma, il y a aussi les années PACES et ma très chère **Andréa**, le Caducée, les révisions, les pauses, beaucoup de pauses, les journées en amphi et puis, les vacances, *vale, vale*. Nos chemins ne sont aujourd'hui plus aussi parallèles qu'avant mais heureusement, ils continuent de s'inter-croiser pour mon plus grand bonheur.

A la plus ancienne de mes amies avec laquelle j'ai passé mes meilleures années de lycée, ma petite **Rosou** 🍷 qui habite désormais dans des contrés canadiennes lointaines mais avec laquelle nous discutons toujours comme si la dernière fois que l'on ne s'était pas vu, ce n'était qu'hier, alors qu'hier à prit quelques rides. Cette année c'est la bonne ✈️.

Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



Liste des abréviations

- a : pente de la droite de régression
- AEG : altération de l'état général
- AICD : *activation-induced cell death*
- AITL : *angioimmunoblastic T-cell lymphoma*
- ALK-ALCL : *ALK-negative anaplastic large cell lymphoma*
- ALK+ALCL : *ALK-positive anaplastic large cell lymphoma*
- APC : *allophycocyanin*
- ATM : *ataxia telangiectasia mutated*
- AUC : *area under the curve*
- b : origine de la droite de régression
- Bcl-2 : *B-cell lymphoma 2*
- BIA-ALCL : *breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma*
- BM : biologie moléculaire
- CAR-T cells : *chimeric antigen receptor-T cells*
- CCL5 : *C-C motif chemokine ligand 5*
- CCL19 : *C-C motif chemokine ligand 19*
- CCL21 : *C-C motif chemokine ligand 21*
- CCL25 : *C-C motif chemokine ligand 25*
- CCR7 : *C-C motif chemokine receptor 7*
- CCR9 : *C-C motif chemokine receptor 9*
- CD : cluster de différenciation
- CDR : *complementarity-determining region*
- CHOP : cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et prednisone
- CLP : *common lymphoid progenitor*
- CMH : complexe majeur d'histocompatibilité
- CMF : cytométrie en flux
- CMJ : *corticomedullary junction*
- CMV : cytomégalovirus
- COFRAC : Comité Français d'Accréditation
- COL29A1 : *collagen 29*
- CRP : *C-reactive protein*
- CSH : cellule souche hématopoïétique

CXCL9 : *CXC motif chemokine ligand 9*
CXCL12 : *CXC motif chemokine ligand 12*
CXCR4 : *CXC motif chemokine receptor 4*
DLL4 : *delta like canonical notch ligand 4*
DN : *double négatif*
DP : *double positif*
DUPS22 : *dual-specificity phosphatase-22*
EBV : *Epstein-Barr virus*
ECD : *R Phycoerythrin-Texas Red®*
ECOG : *Eastern Cooperative Oncology Group*
ERBB4 : *ErbB2 receptor tyrosine kinase 4*
ERK : *extracellular regulated kinase*
Fas : *first apoptosis signal*
FITC : *fluorescein isothiocyanate*
Flt-3 : *fms like tyrosine kinase 3*
FN : *faux négatifs*
FP : *faux positifs*
FR : *framework region*
FRET : *fluorescence resonance energy transfer*
FSC : *forward scatter*
HDAC : *histone désacétylase*
HSCT : *hematopoietic stem cell transplantation*
HTLV-1 : *human T-cell leukemia virus-1*
IC : *intervalle de confiance*
IFN α : *interferon α*
IFN γ : *interferon γ*
IL-1 β : *interleukine-1 β*
IL-6 : *interleukine 6*
IL-7 : *interleukine 7*
IL-7R : *interleukine 7 receptor*
IL-15 : *interleukine 15*
ITAM : *immunoreceptor family tyrosine-based activation motif*
JAK : *Janus kinase*
KIR : *killer cell immunoglobulin-like receptors*

KO : krome orange
LB : lymphocyte B
LCR : liquide céphalorachidien
LDH : lactate deshydrogénase
LNH T : lymphome non Hodgkinien T
LT : lymphocyte T
Lin : *lineage*
MEK : *MAPK kinase extracellular-signal regulated kinase*
MF : *mycosis fungoïdes*
MNI : mononucléose infectieuse
MO : moelle osseuse
MRD : *measurable residual disease*
MS : maladie stable
MTCP1 : *mature T-cell proliferation 1*
n : nombre de prélèvements
NFS : numération formule sanguine
NGS : *next-generation sequencing*
NHEJ : *non-homologous end-joining*
NK : *natural killer*
OMS : organisation mondiale de la santé
ORR : *overall response rate*
OS : *overall survival*
PB : Pacific Blue™
PBS : *phosphate-buffered saline*
PCR : *polymerase chain reaction*
PE : *phycoerythrin*
pdb : paire de base
PD-1 : programmed death-1
PFS : *progression-free survival*
PI3K : phosphatidylinositol-3-kinase
PKB : protéine kinase B
PM : progression de la maladie
PMT : *photomultiplier tubes*
PNN : polynucléaires neutrophiles

PSGL1 : *platelet-selectin glycoprotein ligand-1*
PTCL : *peripheral T-cell lymphomas*
PTCL-NOS : *peripheral T-cell lymphomas not otherwise specified*
r : coefficient de corrélation
 r^2 : coefficient de détermination linéaire de Pearson
RAG : *recombination activating gene*
RC : rémission complète
ROC : *Receiving Operator Characteristic*
RP : rémission partielle
RSS : *recombination signal sequence*
sCD3 : CD3 de surface
SDF-1 : *stromal cell-derived factor 1*
Se : sensibilité
SHE : syndrome hyperéosinophilique
SP : simple positif
Spe : spécificité
SS : syndrome de Sézary
SSC : *side scatters*
STAT : *signal transducers and activators of transcription*
TCL-1 : *T-cell leukemia/lymphoma 1*
TdT : *terminal deoxynucleotidyl transferase*
TEC : cellules endothéliales thymiques
TFH : *T follicular helper*
TSEBT : *total skin electron beam therapy*
NK-LGL : *NK-cell large granular lymphocyte*
T-LGLL : *T-cell large granular lymphocyte leukaemia*
T-PLL : *T-cell prolymphocytic leukaemia*
VN : vrais négatifs
VP : vrais positifs

Table des matières

Introduction.....	26
I. Physiologie lymphocytaire T.....	27
I.1. Ontogenèse T.....	27
I.1.1. Développement médullaire.....	28
I.1.2. Développement thymique.....	28
I.1.2.1. Thymus.....	28
I.1.2.2. Migration et maturation.....	29
I.2. Caractéristiques structurales des lymphocytes T : T-cell receptor (TCR).....	31
I.2.1. Structure du TCR.....	31
I.2.2. Expression du TCR.....	33
I.2.2.1. Réarrangement du TCR.....	33
I.2.2.2. Acquisition de la diversité du TCR.....	35
I.2.2.3. Acquisition du TCR au cours du développement T.....	35
II. Lymphopathies T.....	37
II.1. Leucémies à cellules T matures et cellules NK.....	38
II.1.1. Leucémie prolymphocytaire T.....	38
II.1.1.1. Épidémiologie.....	38
II.1.1.2. Physiopathologie.....	39
II.1.1.3. Clinique.....	39
II.1.1.4. Diagnostic.....	39
II.1.1.4.1. Cytologie.....	39
II.1.1.4.2. Immunophénotypage.....	40
II.1.1.4.3. Cytogénétique et biologie moléculaire.....	40
II.1.1.5. Traitements.....	41
II.1.1.6. Évolution.....	42
II.1.2. Leucémie à grands lymphocytes T granuleux.....	42
II.1.2.1. Épidémiologie.....	43
II.1.2.2. Physiopathologie.....	43
II.1.2.3. Clinique.....	44
II.1.2.4. Diagnostic.....	44
II.1.2.4.1. Cytologie.....	45
II.1.2.4.2. Immunophénotypage.....	45
II.1.2.4.3. Biologie moléculaire.....	45
II.1.2.4.4. Auto-immunité.....	46
II.1.2.5. Traitements.....	46
II.1.2.6. Évolution.....	46
II.1.3. Syndrome de Sézary.....	46
II.1.3.1. Épidémiologie.....	47
II.1.3.2. Physiopathologie.....	47
II.1.3.3. Clinique.....	47
II.1.3.4. Diagnostic.....	47
II.1.3.4.1. Cytologie.....	49
II.1.3.4.2. Immunophénotypage.....	49
II.1.3.4.3. Cytogénétique et biologie moléculaire.....	50
II.1.3.5. Traitements.....	50
II.1.3.6. Évolution.....	51
II.2. Lymphome anaplasique à grandes cellules.....	51

II.2.1. Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK négatif	51
II.2.1.1. Épidémiologie	51
II.2.1.2. Physiopathologie.....	51
II.2.1.3. Clinique	52
II.2.1.4. Diagnostic	53
II.2.1.4.1. Cytologie	53
II.2.1.4.2. Immunophénotypage	53
II.2.1.4.3. Cytogénétique et biologie moléculaire	53
II.2.1.5. Traitements	54
II.2.1.6. Évolution	54
II.2.2. Lymphome anaplasique à grandes cellules associé aux implants mammaires	54
II.2.2.1. Épidémiologie	54
II.2.2.2. Physiopathologie.....	54
II.2.2.3. Clinique	55
II.2.2.4. Diagnostic	55
II.2.2.4.1. Cytologie	55
II.2.2.4.2. Immunophénotypage	56
II.2.2.4.3. Cytogénétique et biologie moléculaire	56
II.2.2.5. Traitements	56
II.2.2.6. Évolution	56
II.3. Lymphome nodulaire à cellules T <i>follicular helper</i> de type angio-immunoblastique.....	56
II.3.1. Épidémiologie	56
II.3.2. Physiopathologie	56
II.3.3. Clinique.....	57
II.3.4. Diagnostic.....	57
II.3.4.1. Cytologie	57
II.3.4.2. Immunophénotypage	58
II.3.4.3. Cytogénétique et biologie moléculaire	58
II.3.5. Traitements.....	58
II.3.6. Évolution	58
II.4. Lymphomes périphériques à cellules T, sans autres précisions	58
II.4.1. Épidémiologie	58
II.4.2. Physiopathologie	59
II.4.3. Clinique.....	59
II.4.4. Diagnostic.....	59
II.4.4.1. Cytologie	59
II.4.4.2. Immunophénotypage	60
II.4.4.3. Cytogénétique et biologie moléculaire	60
II.4.5. Traitements.....	60
II.4.6. Évolution	60
II.5. Syndrome hyperéosinophilique lymphoïde.....	60
II.5.1.1. Épidémiologie	60
II.5.1.2. Physiopathologie.....	60
II.5.1.3. Clinique	61
II.5.1.4. Diagnostic	61
II.5.1.4.1. Immunophénotypage	61
II.5.1.4.2. Cytogénétique et biologie moléculaire	61
II.5.1.5. Traitements	61
II.5.1.6. Évolution	62
II.6. Lymphomes extra-nodaux.....	62

II.6.1. Proliférations lymphoïdes et lymphomes intestinaux à cellules T et NK.....	62
II.6.1.1. Lymphome T associé à une entéropathie.....	62
II.6.1.2. Lymphome T intestinal monomorphe épithéliotropique	63
II.6.2. Lymphome T/NK extra-ganglionnaire	63
III. Cytométrie en flux	64
III.1. Principes généraux.....	64
III.1.1. Système fluide.....	64
III.1.2. Système optique	65
III.1.2.1. Fluorochromes	66
III.1.2.2. Compensations	67
III.1.2.3. Banc optique	68
III.1.3. Système électronique	68
III.1.4. Système informatique	69
III.2. La cytométrie en flux au service des lymphoproliférations T.....	70
IV. Mise en place du marqueur TRBC1 au laboratoire d'hématologie du CHU de Limoges.....	73
IV.1. Généralités.....	73
IV.2. Matériel et méthode	74
IV.2.1. Recrutement des patients	74
IV.2.2. CMF panel TRBC1.....	75
IV.2.3. CMF ancien panel	79
IV.2.4. BM.....	79
IV.2.5. Informations diverses	79
IV.2.6. Statistiques.....	79
IV.2.7. Figures	79
IV.3. Résultats	79
IV.3.1. Cohorte 1.....	79
IV.3.1.1. CMF ancien panel et CMF TRBC1	80
IV.3.1.2. CMF TRBC1 et BM.....	82
IV.3.1.3. CMF TRBC1 et anatomopathologie	86
IV.3.1.4. Comparaison de méthodes	86
IV.3.2. Cohorte 2.....	89
V. Discussion.....	96
V.1. Mise en place du panel TRBC1	96
V.1.1. Compensations	96
V.1.2. Situations réactionnelles	96
V.1.3. Concordance des résultats.....	97
V.2. Utilisation du panel en routine.....	97
V.2.1. Résultats discordants avec l'anatomopathologie	98
V.2.2. Résultats discordants avec la BM	99
V.2.3. Population CD7 ⁺ CD5 ⁻	101
V.2.4. Population CD3 ⁻	103
V.2.5. Suivi particulier	104
V.2.6. Résultats discordants et/ou ambigus	106
V.2.7. Valeurs seuils	109
V.2.8. Utilisation du panel par les différents opérateurs	111
Conclusion.....	113
Références bibliographiques.....	114
Annexes	118
Serment De Galien.....	129

Table des illustrations

Figure 1 : Effecteurs de l'immunité innée et adaptative	27
Figure 2 : Lymphopoïèse T	28
Figure 3 : Structure du thymus adapté d'après <i>Vaidya et al. (18)</i>	29
Figure 4 : Sélection positive et négative adapté d'après <i>Takahama (19)</i>	30
Figure 5 : Migration et maturation thymique des LT adapté d'après <i>Takahama (19)</i>	31
Figure 6 : Structure du TCR adapté d'après <i>LaRosa et al. (9)</i>	32
Figure 7 : Structure des régions variables du TCR des LT adapté d'après <i>Attaf et al. (22)</i> ...	32
Figure 8 : Voies de présentation de l'antigène d'après <i>Neerincx et al. (26)</i>	33
Figure 9 : Gènes du TCR adapté d'après <i>Attaf et al. (22)</i>	34
Figure 10 : Recombinaison V(D)J adapté d'après <i>Rodríguez-Caparrós et al. (27)</i>	34
Figure 11 : Acquisition du TCR au cours de la lymphopoïèse T	36
Figure 12 : Cellules sanguines de T-PLL observés au CHU de Limoges	40
Figure 13 : Physiopathologie de la T-LGLL d'après <i>Semenzato et al. (46)</i>	44
Figure 14 : Cellules sanguines de T-LGLL du patient 39	45
Figure 15 : Érythrodermie chez un patient atteint de SS d'après <i>Spicknall et al. (50)</i>	47
Figure 16 : Cellule de Sézary dans le sang périphérique du patient 7	49
Figure 17 : Principales mutations impliquées dans les ALK-ALCL d'après <i>Zhang et al. (53)</i>	52
Figure 18 : Physiopathologie possible des ALCL d'après <i>Zhang et al. (53)</i>	52
Figure 19 : Cellules d'ALK-ALCL d'après <i>Pina-Oviedo et al. (54)</i>	53
Figure 20 : Lien entre réponse immune et BIA-ALCL d'après <i>Zhang et al. (53)</i>	55
Figure 21 : Cellule de BIA-ALCL d'après <i>Naeim et al. (3)</i>	55
Figure 22 : Cellules d'AITL d'après <i>Naeim et al. (2)</i>	57
Figure 23 : Cellules de PTCL-NOS d'après <i>Naeim et al. (2)</i>	59
Figure 24 : Prise en charge du SHE lymphoïde d'après le PNDS 2022 (62).....	62
Figure 25 : Principe général de la CMF d'après <i>A. Adan et al. (72)</i>	64
Figure 26 : Principe de focalisation hydrodynamique d'après <i>A. Adan et al. (72)</i>	65
Figure 27 : Principe d'obtention de la taille et de la granulosité d'après <i>A. Adan et al. (72)</i> ..	65
Figure 28 : Principe de fluorescence d'après <i>A. Adan et al. (72)</i>	66
Figure 29 : Principaux fluorochromes en CMF d'après <i>abcam (73)</i>	67
Figure 30 : Principe de la compensation d'après <i>Adan et al. (72)</i>	67
Figure 31 : Exemple de <i>bubble matrix</i> d'après <i>Janmohamed-Anastasakis et al. (74)</i>	68
Figure 32 : Différents types de filtres optiques d'après <i>Miltenyi Biotec (75)</i>	68

Figure 33 : Représentation FS/SS	69
Figure 34 : Représentations graphiques des données de CMF	69
Figure 35 : Principe du <i>gating</i>	70
Figure 36 : Structure du TRBC1 et TRBC2 des lymphocytes T d'après <i>Maciocia et al. (4)</i> ... 73	73
Figure 37 : Diagramme résumant l'étude	74
Figure 38 : Sélection des singulets et élimination des débris	76
Figure 39 : Dénomination des populations cellulaires.....	76
Figure 40 : Caractérisation de la population lymphocytaire Les LB en bleu, les LT $\gamma\delta$ en noir, les NK en orange et les LT $\alpha\beta$ et marron	76
Figure 41 : Étude des LB.....	77
Figure 42 : Étude des LT $\gamma\delta$	77
Figure 43 : Étude des NK.....	77
Figure 44 : Étude des LT $\alpha\beta$	78
Figure 45 : Étude de la population mystère pathologique avec déséquilibre de TRBC1	78
Figure 46 : Population mystère non pathologique sans déséquilibre de TRBC1	79
Figure 47 : Comparaison de l'ancien vs. le nouveau panel en CMF de la patiente 7	81
Figure 48 : Résultat de l'ancien panel en CMF du patient 17	82
Figure 49 : Résultat du nouveau panel en CMF du patient 17.....	82
Figure 50 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du prélèvement sanguin de la patiente 9	83
Figure 51 : Résultats de clonalité T en BM du prélèvement sanguin de la patiente 9	83
Figure 52 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du prélèvement médullaire de la patiente 9 .	84
Figure 53 : Résultats de clonalité T en BM du prélèvement médullaire de la patiente 9	84
Figure 54 : Résultats de clonalité T en BM du prélèvement médullaire du patient 6	85
Figure 55 : Comparaison de l'ancien vs. le nouveau panel en CMF du patient 6.....	85
Figure 56 : Corrélation entre le nouveau et l'ancien panel.....	86
Figure 57 : Diagramme des différences entre le nouveau et l'ancien panel	87
Figure 58 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du prélèvement sanguin de la patiente 23 ...	90
Figure 59 : Résultats de clonalité T en BM du prélèvement sanguin de la patiente 23	91
Figure 60 : Résultat du panel TRBC1 en CMF de la patiente 3.....	97
Figure 61 : Résultat du panel TRBC1 en CMF de la patiente 30.....	98
Figure 62 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du patient 18.....	99
Figure 63 : Résultat du panel TRBC1 en CMF de la patiente 19.....	100
Figure 64 : Résultat du panel TRBC1 en CMF de la patiente 12.....	101
Figure 65 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du patient 39.....	102

Figure 66 : Arbre décisionnel pour la population CD7 ⁺ CD5 ⁻	102
Figure 67 : Résultat du panel TRBC1 en CMF de la patiente 27	103
Figure 68 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du patient 10.....	104
Figure 69 : Résultat du répertoire T en NGS sur le prélèvement médullaire du patient 10 .	105
Figure 70 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du patient 10 dans la cohorte 2	106
Figure 71 : Résultat du répertoire T en NGS du patient 10.....	106
Figure 72 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du patient 21.....	107
Figure 73 : Résultats de clonalité T en BM du prélèvement médullaire du patient 21	107
Figure 74 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du patient 49.....	108
Figure 75 : Résultats de clonalité T en BM du patient 49	108
Figure 76 : Courbe ROC	110
Figure 77 : Dot plot de l'expression de TRBC1 par les LT CD4 ⁺ et CD8 ⁺	110

Table des tableaux

Tableau 1 : Proliférations lymphoïdes et lymphomes à cellules T et NK d'après la cinquième édition de la classification des hémopathies lymphoïdes de l'OMS (2)	37
Tableau 2 : Critères diagnostiques d'après <i>Staber et al.</i> (41).....	39
Tableau 3 : Critères d'initiation du traitement d'après <i>Staber et al.</i> (41)	41
Tableau 4 : Critères de réponse aux traitements d'après <i>Staber et al.</i> (41)	42
Tableau 5 : Critères diagnostiques d'après <i>Semenzato et al.</i> (46)	45
Tableau 6 : Arsenal thérapeutique adapté d'après <i>Park et al.</i> (45) et <i>Semenzato et al.</i> (46)	46
Tableau 7 : Critères diagnostiques d'après <i>Semenzato et al.</i> (46)	48
Tableau 8 : Description des atteintes observées dans le SS d'après <i>Lee et al.</i> (48).....	48
Tableau 9 : Classification des SS d'après <i>Lee et al.</i> (48)	49
Tableau 10 : Principaux marqueurs exprimés en fonction des types de lymphopathies T	71
Tableau 11 : Marqueurs T communément utilisés dans les panels T de CMF	72
Tableau 12 : Anticorps utilisés dans le panel TRBC1	75
Tableau 13 : Tableau de contingence entre la CMF ancien panel et la CMF TRBC1	80
Tableau 14 : Tableau de contingence entre la biologie moléculaire et la CMF TRBC1.....	82
Tableau 15 : Tableau de contingence entre l'anatomopathologie et la CMF TRBC1	86
Tableau 16 : Valeurs de corrélation entre le nouveau et l'ancien panel	87
Tableau 17 : Tableau des patients inclus dans la cohorte 1	88
Tableau 18 : Tableau de contingence entre la biologie moléculaire et la CMF TRBC1.....	90
Tableau 19 : Tableau de contingence entre l'anatomopathologie et la CMF TRBC1	90
Tableau 20 : Tableau des patients inclus dans la cohorte 2	92
Tableau 21 : Tableau de contingence CMF TRBC1 vs. BM des résultats bruts	109
Tableau 22 : Tableau des pourcentage d'expression de TRBC1 par les LT CD4 ⁺ et CD8 ⁺	111
Tableau 23 : Tableau des avis des techniciens sur le nouveau panel.....	111
Tableau 24 : Tableau des avis des biologistes sur le nouveau panel.....	112

Introduction

Les syndromes lymphoprolifératifs T constituent un ensemble de pathologies hétérogènes rares ne représentant que 10-15% des lymphomes non-Hodgkiniens (1). Ces entités regroupées sous le nom de lymphopathies à cellules T ou NK dans la cinquième édition de la classification des hémopathies lymphoïdes de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) sont constituées de neuf groupes de néoplasies déterminés en fonction de leur origine cellulaire, du stade de leur différenciation, de la clinique, des localisations ainsi que des paramètres biologiques retrouvés (2). De manière générale, ce type d'affection se développe chez des sujets âgés indépendamment du sexe excepté une légère prédominance masculine retrouvées dans certaines formes.

La manifestation de ces pathologies se caractérise par la prolifération d'un clone lymphocytaire T qui peut être localisé au sein d'une structure tissulaire ou ganglionnaire mais également présenter un passage sanguin ou un envahissement médullaire dans les cas les plus avancés. La mise en évidence de ce clone au diagnostic est indispensable afin de confirmer la suspicion de lymphopathie T. Pour cela, différents moyens peuvent être utilisés tels que l'histologie des coupes biopsiques, la cytologie, la biologie moléculaire (BM), l'immunophénotypage ou encore la génétique et l'imagerie. Cependant, la mise en évidence de cette population anormale n'est pas chose facile tant d'un point de vue clinique, de par la diversité des formes pouvant être retrouvées, que d'un point de vue biologique, de par la difficulté à mettre en évidence cette population chez certains patients. En effet, il est parfois compliqué de différencier le caractère réactionnel du caractère clonal d'une population suspecte retrouvée en cytologie. Pour cela, la BM sera généralement la technique la plus sensible pour différencier ces deux états et celle-ci viendra compléter les observations microscopiques ou immunophénotypiques, qui dans de nombreux cas, ne peuvent déterminer à elles seules la nature tumorale de la population cellulaire suspecte (3).

Le développement de nouvelles méthodes plus rapides et moins coûteuses était donc une nécessité dans le domaine des lymphopathies T. Ainsi, l'objectif de ce projet de thèse s'inscrit dans cette problématique en se basant sur les recherches d'une équipe de la *Mayo Clinic* aux États-Unis qui a développé un nouveau marqueur utilisable en cytométrie en flux (CMF). Il s'agit d'un anticorps anti-domaine constant C1 de la chaîne β du TCR (TRBC1) exprimé de manière équilibré en condition physiologique et déséquilibré en condition clonale. Les cytomètres en flux étant des automates de plus en plus disponibles dans les laboratoires de biologie médicale de par les nombreux avantages qu'ils présentent tels que la rapidité du rendu de résultats ou encore l'importante diversité des anticorps utilisables en combinaison pour obtenir un immunophénotypage de plus en plus précis. Ce nouveau panel constitue un espoir diagnostique majeur dans les lymphopathies T (4-8).

Ce manuscrit retrace par conséquent le travail de développement et de mise en place de ce nouveau panel TRBC1 prometteur au sein du laboratoire d'hématologie du CHU de Limoges dans un premier temps puis, dans un second temps, du retraitement et de l'analyse des résultats obtenus sur la cohorte de patients.

I. Physiologie lymphocytaire T

Les lymphocytes T (LT) sont des cellules sanguines appartenant à la famille des globules blancs. Ils participent avec les lymphocytes B (LB) à la réponse immunitaire adaptative contrairement aux polynucléaires, macrophages, cellules dendritiques et cellules natural killer (NK) qui jouent un rôle dans la réponse immunitaire innée. Ces deux types de réactions immunitaires permettent à l'organisme de se défendre contre des éléments perturbateurs tels que des infections (bactériennes, virales ou parasitaires) mais aussi des cellules tumorales (9) (Figure 1). L'efficacité de cette immunité cellulaire médiée par les LT repose sur une lymphopoïèse T efficace parfaitement orchestrée et capable de générer une cellule fonctionnelle. Ce sont les étapes permettant d'obtenir cette dernière qui seront abordées dans cette première partie du manuscrit.

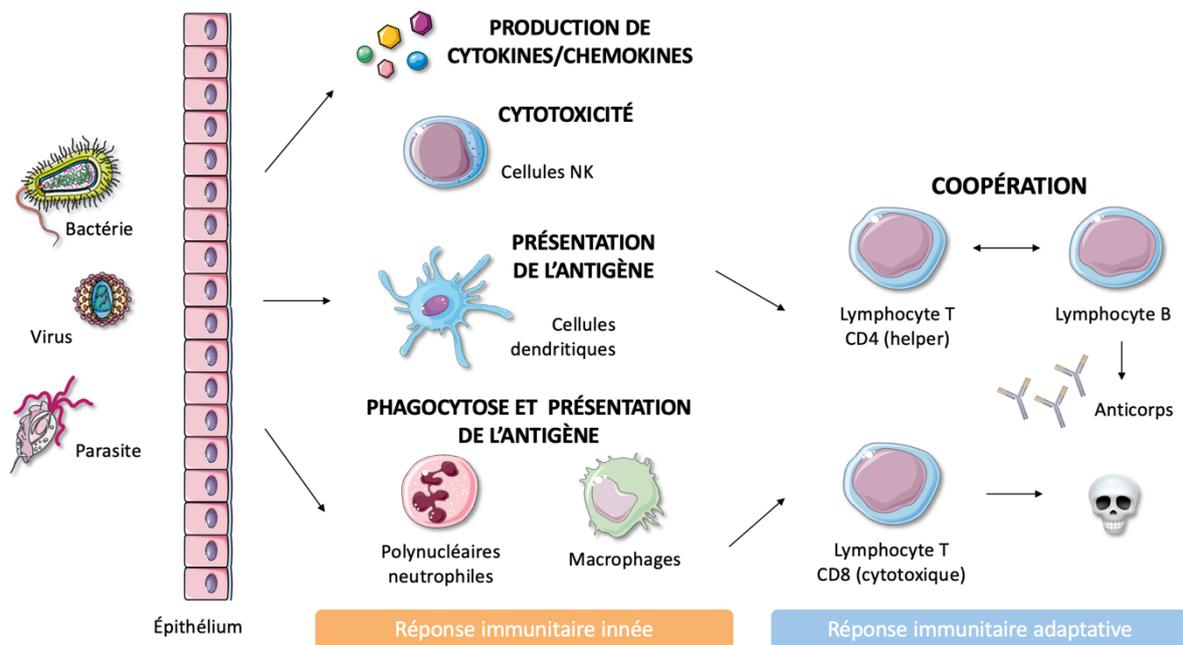


Figure 1 : Effecteurs de l'immunité innée et adaptative

I.1. Ontogenèse T

La lymphopoïèse T (Figure 2) regroupe un certain nombre d'étapes permettant la libération dans la circulation sanguine d'un lymphocyte T naïf prêt à répondre à une stimulation antigénique pour terminer son activation. En effet, la génération des lymphocytes T débute dans la moelle osseuse (MO) à partir d'une cellule souche hématopoïétique (CSH) qui va progressivement acquérir des propriétés de différenciation propres à la lignée T grâce à plusieurs étapes clés permettant à cette cellule de maturer et de migrer dans divers organes notamment le thymus. Enfin, des étapes de sélection permettront de ne conserver que les LT ayant acquis une tolérance pour les molécules du soi (9-11).

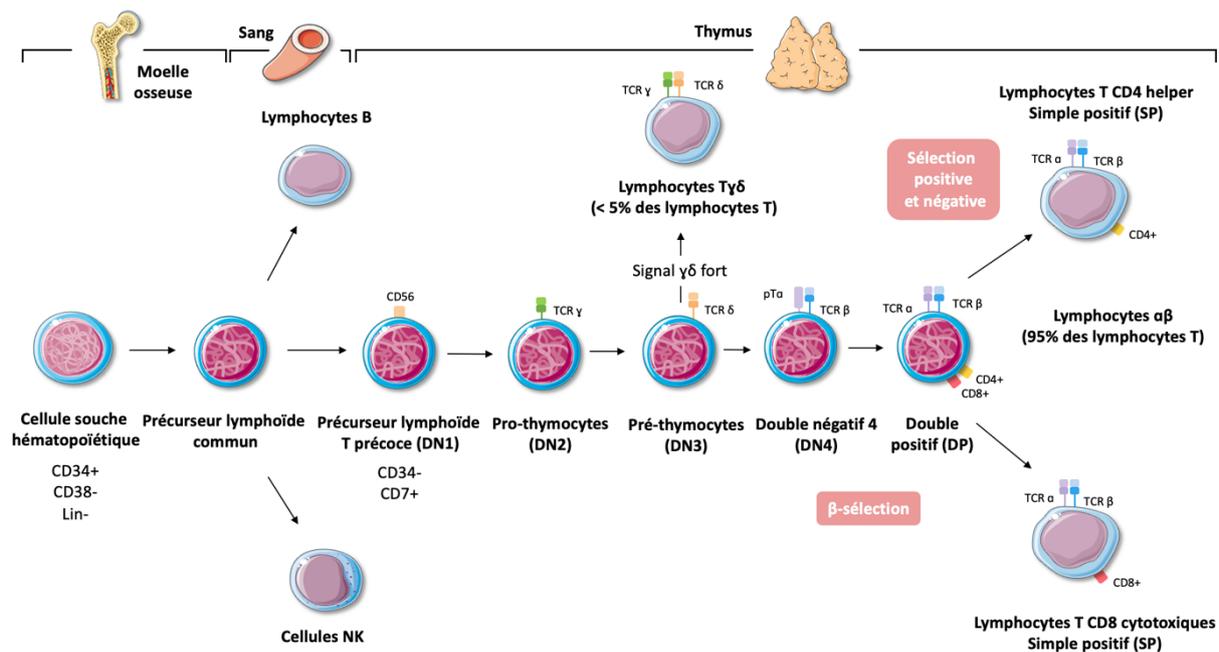


Figure 2 : Lymphopoïèse T

I.1.1. Développement médullaire

Les lymphocytes T, B et les cellules NK dérivent toutes d'un progéniteur lymphoïde commun (CLP) de localisation médullaire qui provient lui-même d'une CSH. Cette CSH est douée de capacités d'auto-renouvellement et de différenciation pour donner des cellules plus avancées dans un lignage et ce, en fonction des facteurs exprimés par l'environnement cellulaire (12). Entre autres, la stimulation des voies médiées par l'IL-7 grâce à son récepteur dédié (IL-7R α) favorise l'engagement de la cellule dans la lignée lymphoïde (13-14).

I.1.2. Développement thymique

I.1.2.1. Thymus

Le thymus est un organe bilobé situé en avant du cœur (15). Chacun de ces lobes est composé de lobules présentant une région corticale (externe) et une région médullaire (interne) (Figure 3). Cet organe joue un rôle crucial dans le système de défense immunitaire du corps humain et plus précisément dans la constitution du système de défense adaptatif (16). Cependant, dès l'âge de la puberté, cette structure involue pour finalement ne constituer qu'une masse grasseuse non fonctionnelle. Ainsi, le rôle du thymus se concentre essentiellement entre le troisième et quatrième mois de la vie fœtale marquant le début de la différenciation des LT et l'âge adulte (11). Un certain nombre d'études ont montré que des enfants ayant subi une ablation du thymus (ou thymectomie) au cours de la période néonatale (28 premiers jours de vie) n'étaient pas significativement plus sujets à des phénomènes d'auto-immunité ou d'infection que des adultes n'ayant pas subi ce type d'intervention durant leur enfance. A l'inverse, une thymectomie ou un développement insuffisant pendant la vie fœtale pourra entraîner un défaut de production de cellules T, aussi appelé syndrome de Di George (16-17).

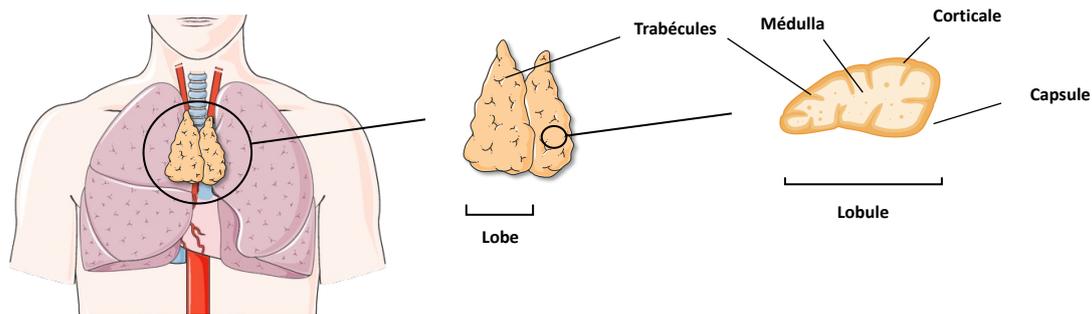


Figure 3 : Structure du thymus adapté d'après *Vaidya et al.* (18)

I.1.2.2. Migration et maturation

Comme la MO, le thymus est un organe lymphoïde primaire dans lequel les LT se différencient, prolifèrent et sont sélectionnés. En effet, les CLP vont quitter la MO pour poursuivre leur différenciation au niveau du thymus. Seules les cellules exprimant le ligand à la P-sélectine (*Platelet-selectin glycoprotein ligand-1*) pourront interagir avec la P-sélectine présente sur les cellules thymiques endothéliales, et ainsi élire domicile dans le thymus (16) (19).

Une fois dans le thymus, les CLP vont migrer dans les différentes structures de cet organe pour compléter leur maturation grâce aux vaisseaux sanguins présents au niveau de la jonction cortico-médullaire (CMJ). La migration couplée à la maturation des thymocytes de la région corticale vers la région médullaire sera initiée par divers ligands membranaires, chémokines et cytokines produites par les cellules stromales implantées dans ces deux régions. Ces cellules stromales prennent le nom de cellules endothéliales thymiques (TEC) corticales et médullaires (mTEC) (16) (19).

Tout d'abord, les CLP vont être attirées au niveau du thymus via la libération de chémokines par les TEC tels que le ligand CCL25 qui après interaction avec leur récepteur CCR9 présent à la surface des CLP, facilitera ainsi leur *homing* dans le thymus (11). Une fois arrivés au niveau de la CMJ, ces derniers vont commencer à se destiner à la lignée T par le biais de l'interaction entre le récepteur Notch présent à la surface des CLP, et de son ligand DLL4, exprimé à la surface des cellules endothéliales thymiques corticales (cTEC). Cette interaction permet non seulement aux CLP d'entamer leur différenciation jusqu'au stade de cellule double négative 3 (DN3) mais également, de participer à leur survie grâce à la production d'IL-7 par les cTEC (16) (19).

Les précurseurs lymphoïdes T précoces aussi appelés cellules double négative (DN) à cause de leur absence d'expression des corécepteurs CD4 et CD8, caractéristiques des LT matures, vont progressivement migrer de la CMJ vers le cortex puis vers la médulla. Ces mouvements sont permis par des interactions entre la chémokine CXCL12 (également appelé SDF-1) et son récepteur CXCR4 (ou CD184) mais aussi entre les chémokines CCL19 et CCL21 et leur récepteur CCR7. Des études ont montré que des progéniteurs déficients pour les interactions CXCR4/CXCL12 (20) et CCL19 ou CCL21/CCR7 (21) restaient bloqués au stade de DN1 et présentaient une absence de migration vers le cortex du thymus. De même le signal médié par CCR9/CCL25 est très important pour faciliter la bonne localisation des DN3 avant la β -sélection ayant lieu au stade suivant. Il est également important de noter que le signal médié par les voies de Flt-3 permet d'induire l'expression de CCR9 à la surface des thymocytes (11).

Une fois la maturation corticale terminée, les thymocytes désormais doubles positifs (DP) vont migrer vers la zone médullaire grâce à l'augmentation de l'expression de CCR7 à leur surface couplée à la libération par les mTEC des chémokines interagissant avec CCR7, CCL19 et CCL21 (Figure 5) (19) (21).

Plusieurs étapes de sélection seront nécessaires à la maturation de LT fonctionnels. La première étape est dite de β -sélection. Elle a lieu dans la corticale thymique et permet aux DN4 exprimant une chaîne β fonctionnelle de recevoir des signaux pour poursuivre leur maturation tout en réprimant l'expression des chaînes $\gamma\delta$ (9). Cette sélection des LT sera abordée dans le chapitre sur les caractéristiques structurales des LT. Une étape de sélection positive permettra ensuite aux thymocytes DP reconnaissant fortement les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et faiblement les peptides du soi, de poursuivre leur développement. A contrario, ceux reconnaissant faiblement le CMH et fortement les peptides du soi subiront une étape de sélection négative (Figure 4) conduisant à leur mort par apoptose afin d'éviter tout défaut d'immunité ou bien au contraire tout risque de réactions d'auto-immunité. À la suite de ces interactions, les thymocytes réagissant avec le CMH de classe I deviendront des LT cytotoxiques ou LT CD8, lymphocytes simples positifs (SP) ayant perdu l'expression du CD4, alors que ceux réagissant avec le CMH de classe II deviendront des LT *helpers* ou LT CD4 ayant perdu l'expression du CD8 (16) (19). Afin de permettre ces phénomènes de tolérance centrale, un gène du nom de *autoimmune regulator gene* (AIRE) est indispensable à l'expression des antigènes spécifiques des tissus par les mTEC. Ce processus de tolérance positive et négative sélectionne les LT capables de reconnaître et de répondre aux peptides du non-soi et d'éliminer ceux qui n'en serait pas ou trop capable. Ainsi, seul 2% des thymocytes DP poursuivront leur développement et subiront par la suite des phénomènes de tolérance périphérique (9).

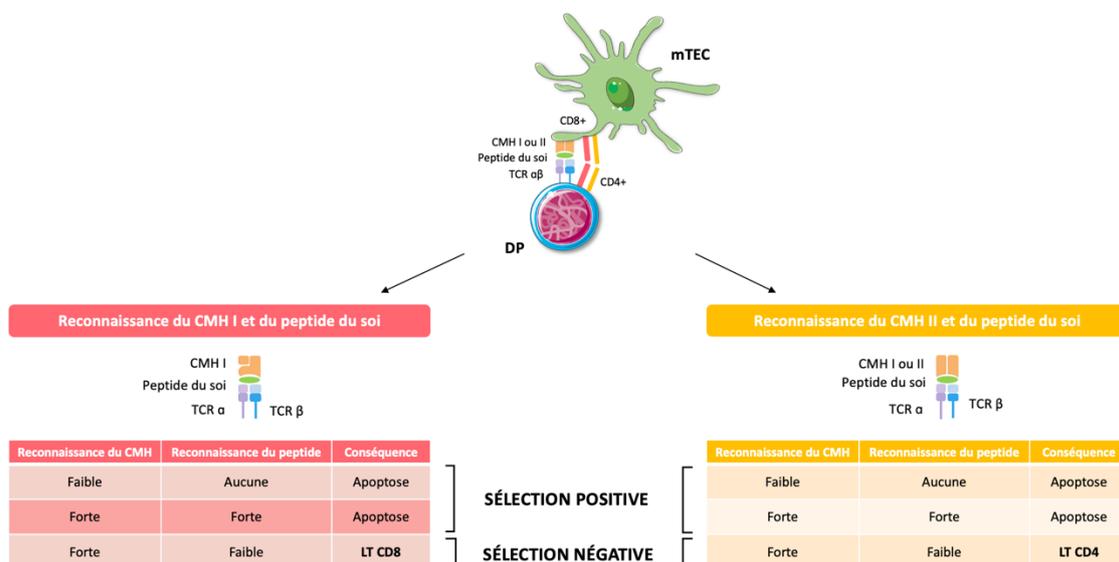


Figure 4 : Sélection positive et négative adapté d'après *Takahama* (19)

Les LT matures simples positifs exprimant soit le CD4, soit le CD8 pourront ensuite quitter le thymus au niveau de la CMJ pour rejoindre la circulation sanguine et constituer le pool de LT naïfs circulant à travers le sang, la lymphe et les organes lymphoïdes secondaires (19).

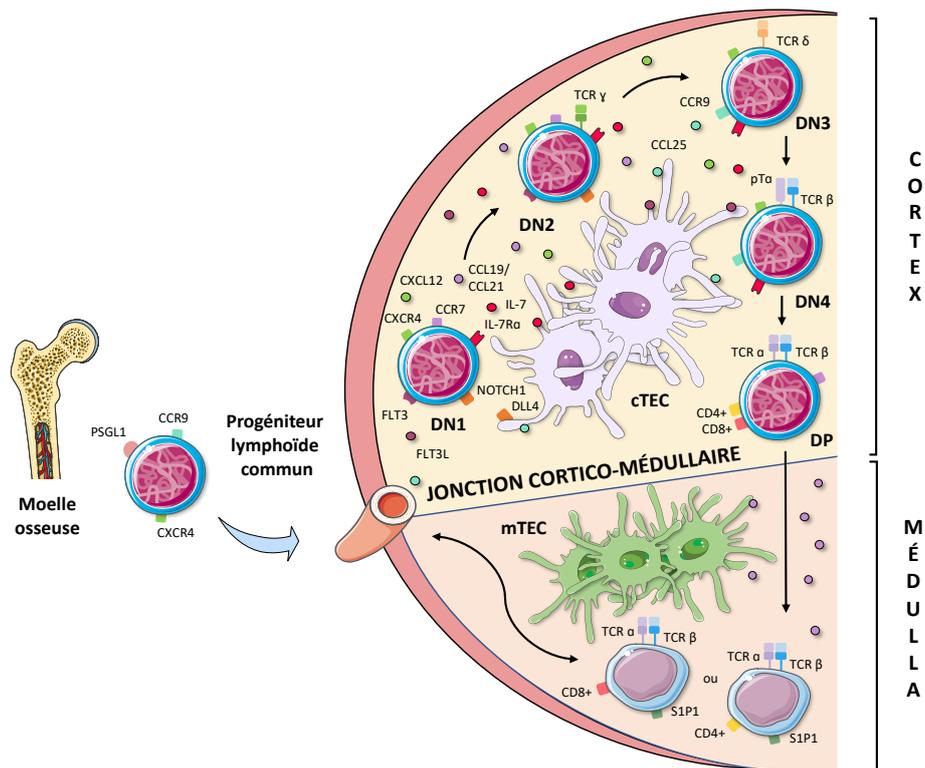


Figure 5 : Migration et maturation thymique des LT adapté d'après Takahama (19)

I.2. Caractéristiques structurales des lymphocytes T : T-cell receptor (TCR)

Le TCR est le récepteur présent à la surface des LT permettant aux cellules qui l'expriment de jouer un rôle capital dans le système immunitaire en termes de reconnaissance d'agents pathogènes ou de cellules cancéreuses. Ce système est un système complexe permettant d'une part la reconnaissance des peptides du non-soi et d'autre part la transmission de l'information par signalisation intracellulaire pour engendrer une réponse adaptée au stimulus (22).

I.2.1. Structure du TCR

Le TCR est constitué de deux chaînes $\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$ associées de façon non covalente permettant la reconnaissance du CMH et du peptide présenté par les cellules présentatrices d'antigène (peptide) aux LT. Ces deux chaînes correspondent chacune à une structure de type immunoglobuline-like composée d'une région variable (V) et d'une région constante (C) reliées par une zone jonctionnelle (J), une région transmembranaire et une région intracellulaire (Figure 6) (1) (14).

Associé à ces deux chaînes, se trouve le complexe CD3 constitué de trois dimères invariants : $CD3\epsilon\delta$, $CD3\gamma\epsilon$ et $CD3\zeta\zeta$. Une légère différence existe dans la structure des divers membres du complexe. En effet, les $CD3\epsilon$, δ et γ présentent une structure de type *immunoglobuline-like* semblable à celles des chaînes α , β , γ et δ . A l'inverse, le $CD3\zeta$ ne possède pas de partie extra-cellulaire. Ce dernier se lie aux régions transmembranaire et cytoplasmique des chaînes $\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$. Ainsi, chacun des membres du complexe possède une partie intracytoplasmique permettant la transduction du signal à l'intérieur des LT grâce à la présence de motifs d'activation des récepteurs immuns basés sur la tyrosine (appelés ITAM) qui une fois phosphorylés entraineront une cascade de réaction facilitant l'activation des LT (1) (14).

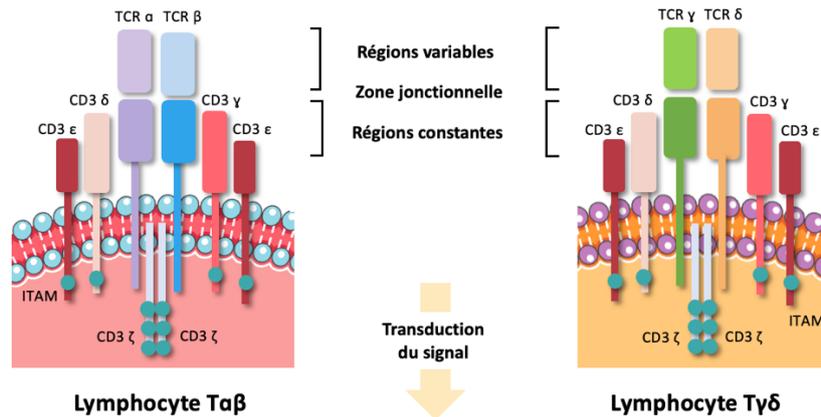


Figure 6 : Structure du TCR adapté d'après LaRosa et al. (9)

La structure du TCR conditionne différentes sous-populations de LT. Les lymphocytes $\alpha\beta$ correspondent à la première sous population. Ces lymphocytes sont capables de reconnaître les antigènes présentés par les molécules de CMH et sont qualifiés de $CD4^+$ ou $CD8^+$ en fonction du CMH qu'ils reconnaissent (9). A l'inverse, les lymphocytes $\gamma\delta$, principalement retrouvés au niveau des tissus épithéliaux (22), reconnaîtront les antigènes présentés par les molécules de CMH mais également les antigènes seuls (tels que les molécules induites par le stress, les *pathogen-associated molecular patterns* ou PAMP et les cytokines) ainsi que ceux présentés par des molécules apparentées au CMH leur conférant des propriétés proches des cellules de l'immunité innée (23).

Les régions variables de ces deux sous-populations lymphocytaires sont composées de deux structures distinctes (Figure 7), les *framework regions* (FR) et les *complementarity-determining regions* (CDR). Les FR sont des structures très conservées et invariantes pouvant être assimilées à la charpente de la région variable. A l'inverse, les CDR seront plutôt des structures très variables conférant la possibilité de reconnaître un vaste panel d'antigène grâce à la variabilité acquise au cours de leur développement mais également de reconnaître les CMH de classe I ou II (24).

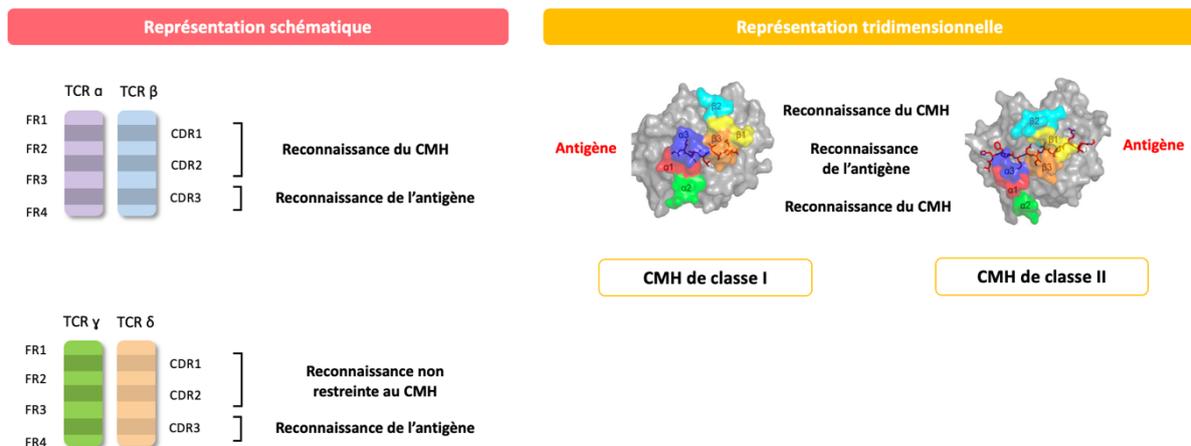


Figure 7 : Structure des régions variables du TCR des LT adapté d'après Attaf et al. (22)
Molécule de CMH en gris, antigène en rouge (au centre) et trois type de CDR (CDR1 α , CDR1 β , CDR2 α , CDR2 β , CDR3 α et CDR3 β) pour chaque chaîne du TCR en couleur

A l'inverse, la région constante constitue la structure ne reconnaissant pas directement l'antigène mais permettant le maintien de cette dernière à la surface de la cellule grâce à des domaines extracellulaires, transmembranaires et intracellulaires. Les chaînes α et γ ne possèdent qu'un seul type de région constante possible contrairement aux chaînes β et δ qui peuvent exprimer soit C1, soit C2, les deux étant mutuellement exclusives. Généralement, en condition physiologique, les LT $\alpha\beta$ expriment C1 et C2 de manière équilibrée, c'est-à-dire environ 50% de C1 et 50% de C2 (25).

Ces CMH de classe I et II reconnus respectivement par les LT $\alpha\beta$ $CD8^+$ et $CD4^+$ présentent eux aussi des spécificités propres. En effet, les molécules de CMH de classe I exprimées à la surface de toutes les cellules nucléées présentent des antigènes endogènes permettant aux LT cytotoxiques de s'assurer de l'intégrité (virus intracellulaire, cancers) des cellules avec lesquelles ils interagissent. *A contrario*, les molécules du CMH de classe II présentent quant à elles des protéines exogènes uniquement par le biais des cellules présentatrices de l'antigène professionnelles qui permettront la détection des agressions extérieures (parasites, bactéries...) (Figure 8) (26).

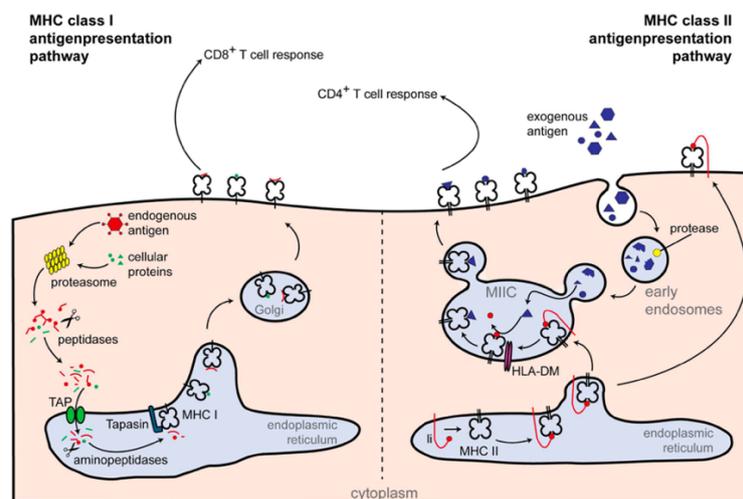


Figure 8 : Voies de présentation de l'antigène d'après Neerincx et al. (26)

I.2.2. Expression du TCR

Pour être fonctionnels, les lymphocytes $\alpha\beta$ et $\gamma\delta$ doivent correctement réarranger leurs chaînes α , β , γ et δ au cours de leur maturation. Ce réarrangement est le résultat de multiples étapes successives dirigées par divers signaux apportés par l'environnement thymique (27)

I.2.2.1. Réarrangement du TCR

Les quatre gènes du TCR sont organisés en trois loci, le locus TCRA/TCRD, le locus TCRB et le locus TCRG. Les gènes codant pour la chaîne δ sont insérés dans les gènes de la chaîne α . Cette conformation permet ainsi de prévenir la coexistence du réarrangement de ces deux gènes étant donné que le réarrangement VaJa entraîne la délétion du TCRD (27-28).

Ces quatre gènes sont composés de deux ou trois segments en fonction de la chaîne. En effet, les chaînes α et γ sont composées des segments de variabilité (V), de jonction (J) et d'un segment constant (C) alors que les chaînes β et δ sont composées des segments de variabilité (V), de diversité (D), de jonction (J) et d'un segment constant (C) (27-28).

Le locus TCRA/TCRD, codant pour les chaînes α et δ , est situé sur le chromosome 14 (en 14q11). Il comporte 46 régions Va/V δ , 3 régions D δ , 4 régions J δ , 1 région C δ , 50 régions Ja et 1 région Ca. Le locus TCRB, codant pour les chaînes α et δ , est situé sur le chromosome 7 (en 7q34). Il comporte 46 régions V β , 2 régions D β (1D β_1 et 1D β_2), 13 régions J β (6J β_1 et 7J β_2) et 2 régions C β (1C β_1 et 1C β_2). Le locus TCRG, codant pour les chaînes α et δ , est situé sur le chromosome 7 (en 7q14). Il comporte 6 régions V γ , 5 régions J γ (3J γ_1 et 2J γ_2) et 2 régions C γ (1C γ_1 et 1C γ_2) (Figure 9) (27).

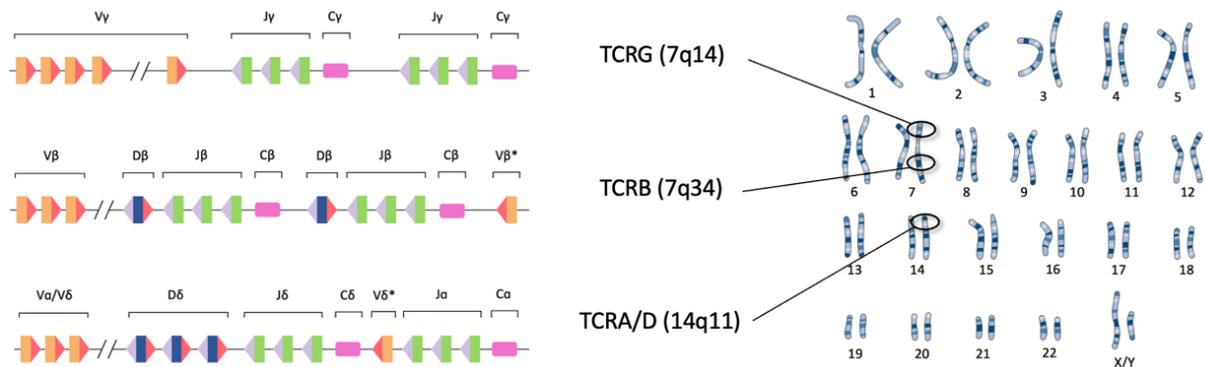


Figure 9 : Gènes du TCR adapté d'après *Attaf et al.* (22)

Le réarrangement de ces gènes du TCR prend le nom de recombinaison V(D)J. Celle-ci débute par la reconnaissance des séquences appelées signal de recombinaison (RSS) par les protéines RAG1 et RAG2. Ces protéines reconnaissent les deux types de séquences RSS, les 12-RSS et les 23-RSS associées aux séquences V, D et J. Seul le réarrangement entre les séquences 12-RSS et 23-RSS est efficace. On parle de règle 12/23. Une fois les séquences reconnues, une coupure double brin va être créée permettant de rapprocher les séquences V(D)J correspondantes. Ces coupures seront ensuite réparées grâce à l'activation du système de réparation de jonction d'extrémités non homologues (NHEJ) spécifique des cassures doubles brins de l'ADN. Pour finir, une étape de ligation permettra de terminer la liaison entre les deux segments (Figure 10) (28).

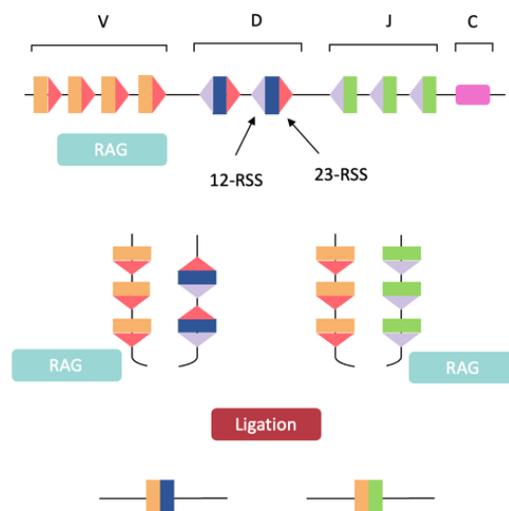


Figure 10 : Recombinaison V(D)J adapté d'après *Rodríguez-Caparrós et al.* (27)

I.2.2.2. Acquisition de la diversité du TCR

Le rôle premier des LT étant de reconnaître le non-soi et de déclencher une réponse appropriée, il est primordial qu'ils soient capables de détecter et de mettre en place une réponse immunitaire adaptée aux molécules du non-soi qu'ils seraient à même de rencontrer.

Cette diversité est permise par l'expression du TCR. En effet, celle-ci implique l'action de diverses enzymes et notamment les recombinaisons RAG 1 et RAG 2 qui initient les recombinaisons V(D)J entre les différents segments V, D et J ainsi que de la *terminal deoxynucleotidyl transferase* (TdT) qui insère des nucléotides de manière aléatoire juste avant l'étape de ligation lors de la réparation de l'ADN faisant suite à la coupure induite par les recombinaisons (29).

Ces deux enzymes sont respectivement à l'origine des diversités combinatoires et jonctionnelles qui permettent entre autres de participer à la diversité du TCR. De façon théorique, le pool limité de gènes codants pour le TCR peut générer entre 10^{15} et 10^{20} clonotypes de TCR sachant qu'un clonotype correspond à l'expression d'un TCR identique par un pool cellulaire au sein de la population lymphocytaire (14) (22). Cependant, la réalité est autre. Le corps humain ne comportant que 10^{12} LT (30), la diversité du répertoire TCR chez une personne serait en réalité inférieure, environ 10^8 (31).

I.2.2.3. Acquisition du TCR au cours du développement T

C'est au niveau du thymus, au stade de pro-thymocyte que la recombinaison V(D)J débute. Tout d'abord, les pro-thymocytes vont commencer par réarranger les chaînes γ , δ et β . Si l'expression du TCR $\gamma\delta$ est fonctionnelle, le LT non-conventionnel $\gamma\delta$ nouvellement créé quitte le thymus pour rejoindre les tissus épithéliaux. A l'inverse, un réarrangement β fonctionnel entraîne l'expression d'un TCR β qui s'associera avec un substitut de TCR α ($p\alpha$) pour former le pré-TCR à la surface des DN4.

La fonctionnalité de ce complexe pré-TCR sera ensuite testée. Seuls les LT exprimant à leur surface un pré-TCR $\alpha\beta$ capable de transduire un signal survivront à cette étape de β -sélection et seront capables de poursuivre leur développement (1) (29). Cette acquisition du TCR au cours du développement T est sous la dépendance de l'expression d'un certain nombre d'enzymes impliquées dans ce mécanisme parmi lesquelles les recombinaisons RAG 1 et 2 ainsi que la TdT possèdent un rôle majeur. Ces deux enzymes devront être exprimées à des moments précis pour permettre l'expression fonctionnelle du TCR.

Ainsi, les recombinaisons seront exprimées à deux temps de la lymphopoïèse T, le premier au stade pro-thymocyte pour l'acquisition du TCR $\gamma\delta$ et le deuxième au stade pré-thymocyte pour l'acquisition du TCR $\alpha\beta$ (32). De même, la TdT sera principalement exprimée par les lymphocytes immatures (Figure 11) (33).

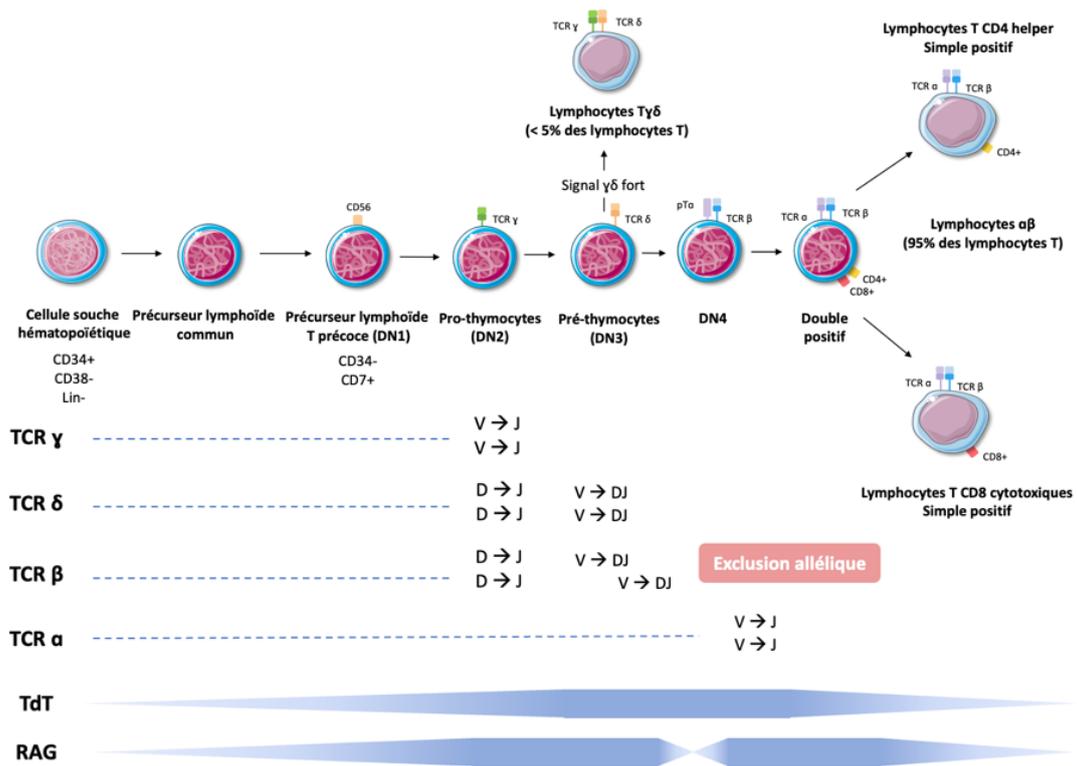


Figure 11 : Acquisition du TCR au cours de la lymphopoïèse T
L'expression des enzymes au cours du développement des LT est représentée en bleu

II. Lymphopathies T

Les lymphopathies à cellules T ou NK constituent un groupe hétérogène de pathologies rares ne représentant que 10% des lymphomes non-Hodgkiniens. Actuellement, la cinquième édition de la classification des hémopathies lymphoïdes de l'OMS parue en 2022 recense une quarantaine d'entités listées dans le Tableau 1 (2).

Tableau 1 : Proliférations lymphoïdes et lymphomes à cellules T et NK d'après la cinquième édition de la classification des hémopathies lymphoïdes de l'OMS (2)

Lésions tumorales à prédominance lymphocytaire T	Maladie de Kikuchi-Fujimoto Prolifération lymphoblastique indolente Syndrome lymphoprolifératif auto-immun
Néoplasmes à précurseur T	
Leucémies/lymphomes lymphoblastiques T	Leucémie/lymphome lymphoblastique T, sans autres précisions Leucémie/lymphome lymphoblastique à précurseurs T
Néoplasies à cellules T matures et cellules NK	
Leucémies à cellules T matures et cellules NK	Leucémie prolymphocytaire T Leucémie à grands lymphocytes T granuleux Leucémie à grands NK granuleux Leucémie/lymphomes à cellules T de l'adulte Syndrome de Sézary Leucémie agressive à cellule NK
Lymphome cutané primaire à lymphocyte T	Trouble lymphoprolifératif cutané primitif à petites ou moyennes cellules T CD4+ Trouble lymphoprolifératif cutané primitif à cellules T CD8+ Mycosis fongoïde Trouble lymphoprolifératif cutané primitif à cellules T CD30+ : papulose lymphomatoïde Trouble lymphoprolifératif cutané primitif à cellules T CD30+ : lymphome cutané primitif anaplasique à grandes cellules Lymphome T sous-cutané à type de panniculite Lymphome T cutané primitif de phénotype TCR γ/δ Lymphome T cutané primitif agressif à tropisme épidermoïde et cellules T CD8+ cytotoxiques Lymphome T cutané primitif à lymphocytes T périphériques, sans autres précisions
Proliférations intestinales lymphoïdes à cellules T et NK et lymphomes	Lymphome indolent du tractus gastrointestinal à cellule T Trouble lymphoprolifératif indolent du tractus gastrointestinal à cellule NK Lymphome à cellules T associé à une entéropathie Lymphome à cellules T intestinales épithéliotropes monomorphes Lymphome intestinal à cellule T
Lymphome hépatosplénique à cellule T	
Lymphome à cellules anaplasiques larges	Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK positif Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK négatif Lymphome anaplasique à grandes cellules associé à un implant mammaire
Lymphome à cellules T follicular helper nodulaires	Lymphome à cellules T follicular helper nodulaires de type angio-immunoblastique Lymphome à cellules T follicular helper nodulaires de type folliculaire Lymphome à cellules T follicular helper nodulaires, sans autres précisions
Autres lymphomes périphériques à cellules T	Autres lymphomes périphériques à cellules T, sans autres précisions
Lymphomes à cellules NK/T EBV positives	Lymphome nodulaire à cellules NK/T EBV positives Lymphome extra-nodulaire à cellules NK/T EBV positives
Proliférations lymphoïdes et lymphomes à cellules NK/T EBV positives de l'enfant	Allergie sévère aux piqûres de moustiques Lymphoprolifération cutanée de type hydroa vacciniforme Maladie systémique chronique active à EBV Lymphome T systématique EBV positif de l'enfant

Parmi les lymphopathies T listées dans la cinquième édition de l’OMS, les lymphomes périphériques à cellules T, sans autres précisions et le lymphome à cellules T *follicular helper* nodulaires de type angio-immunoblastique sont les plus fréquents en Europe et aux États-Unis. A l’inverse, la leucémie/lymphome à cellules T de l’adulte secondaire à une infection par le virus T-lymphotropique 1 humain (HTLV-1) est l’entité la plus fréquente en Asie contrairement à l’Europe et aux États-Unis, considérés comme des zones à faible risque de contamination pour ce virus (34-35).

De manière générale, l’ensemble de ces lymphopathies T se déclenchent chez le sujet âgé sous la forme d’une prolifération d’un clone lymphocytaire T, exception faite du sous type anaplasique à grandes cellules qui touche plus fréquemment les sujets jeunes.

Le diagnostic repose sur la mise en évidence de ce clone lymphocytaire pathogène, et ce par différents moyens cytologiques, histologiques, par immunophénotypage à la recherche de clés phénotypiques caractéristiques, grâce à la BM étudiant les réarrangements des gènes codant pour le TCR, ou encore la cytogénétique et l’imagerie (1) (34). Une fois le diagnostic établi, le traitement reposera principalement sur l’utilisation de chimiothérapies systémiques similaires à celles utilisées dans les formes agressives de lymphomes non hodgkiniens à cellules B. Le protocole CHOP associant le cyclophosphamide, la doxorubicine, la vincristine et la prednisone est grandement utilisé pour traiter ces deux types de lymphomes, hormis le rituximab, un anticorps anti-CD20 (marqueur spécifique des lymphocytes B) uniquement utilisé dans les lymphomes B. Cependant, les lymphopathies T sont généralement de moins bon pronostic que les lymphopathies B (1) (36-37). De plus, malgré l’émergence de nouvelles thérapies innovantes ces dix dernières années telles que les inhibiteurs des histones désacétylases (HDAC), des agents hypométylants, des anticorps monoclonaux, des inhibiteurs phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) et bien d’autres, les lymphopathies T conservent un pronostic défavorable en particulier lors des rechutes (37).

Les lymphopathies T constituant un groupe très hétérogène de pathologies, seules les entités observées dans la cohorte de patients étudiée seront abordées dans la suite de ce manuscrit.

II.1. Leucémies à cellules T matures et cellules NK

II.1.1. Leucémie prolymphocytaire T

II.1.1.1. Épidémiologie

La leucémie prolymphocytaire T (T-PLL) est une hémopathie des cellules T matures rare (38-39) représentant approximativement 2% des leucémies lymphocytaires matures chez les adultes de plus de 30 ans, ce qui en fait la leucémie à cellules T matures la plus fréquente (39). La T-PLL est principalement retrouvée chez les sujets âgés avec une légère prédominance masculine et un âge médian au diagnostic de 61 ans. De rares cas de T-PLL ont également été rapportés chez l’enfant (38-40).

La grande majorité des cas sont sporadiques excepté chez les patients atteints de certaines conditions génétiques comme par exemple, l’ataxie télangiectasie pour laquelle le risque de développer une T-PLL est augmenté par rapport à la population générale (39) avec un âge médian au diagnostic de 31 ans (40).

II.1.1.2. Physiopathologie

La physiopathologie de cette hémopathie est encore mal connue. Cependant, il semblerait que la T-PLL résulte de l'activation d'un proto-oncogène du nom de TCL-1 pour *T-cell leukemia/lymphoma 1*. L'augmentation de son expression conduit à l'activation de protéines kinases B (PKB aussi appelés AKT) à l'origine d'une expansion de la prolifération cellulaire. Cependant, cette altération génomique n'est pas la seule impliquée dans la T-PLL. En effet, d'autres anomalies telles que celles affectant le suppresseur de tumeur *ataxia telangiectasia* muté (ATM) ou encore l'activation de la voie des Janus kinase (JAK) et de la protéine STAT (*signal transducers and activators of transcription*) ont également été décrites (38).

II.1.1.3. Clinique

Dans ses formes typiques, elle se manifeste par une hyperleucocytose, généralement supérieure à 100 G/L et de constitution rapide pouvant être associée à l'apparition de symptômes B caractérisés par de la fièvre, des sueurs nocturnes, une perte de poids... Les patients peuvent également présenter des cytopénies en particulier des anémies et des thrombopénies, ainsi qu'un syndrome tumoral avec des hépatomégalies, des splénomégalies, des adénopathies, des érythèmes, des éruptions cutanées et/ou des œdèmes (38-40). Une minorité de patients peuvent également être asymptomatiques au diagnostic. On parle de forme indolente de la T-PLL. Cette phase indolente peut persister plusieurs années mais l'évolution de la pathologie sera souvent très rapide à l'apparition des symptômes (38-40).

II.1.1.4. Diagnostic

Le diagnostic de T-PLL repose sur l'évaluation concomitante de la clinique ainsi que de la mise en évidence et la caractérisation du clone T dans le sang grâce à la cytologie, l'immunophénotypage, la cytogénétique et la BM (40).

Pour faciliter le diagnostic, il existe un certain nombre de critères présentés dans le Tableau 2. En effet, il sera nécessaire de réunir trois critères majeurs ou les deux premiers critères majeurs et un critère mineur pour affirmer le diagnostic de T-PLL (41).

Tableau 2 : Critères diagnostiques d'après *Staber et al.* (41)

Critères majeurs	Critères mineurs
> 5 G/L de clone T-PLL dans le sang ou la moelle	Anomalies concernant le chromosome 11 : 11q22.3 ou ATM
Clonalité T par PCR pour TRB/TRG ou CMF	Anomalies du chromosome 8 : idic(8)(p11), t(8;8) ou trisomie 8q
Anomalies de 14q32 ou Xq28 ou expression de TCL1A/B ou MTCP1	Anomalies des chromosomes 5, 12, 13, 22 ou caryotype complexe Implication des sites spécifiques T-PLL (splénomégalie...)

II.1.1.4.1. Cytologie

Les cellules observées dans les T-PLL peuvent prendre plusieurs aspects. L'aspect typique (75%) retrouve des lymphocytes de petite à moyenne taille, un cytoplasme basophile présentant des protrusions mais dépourvu de granules, un noyau rond, ovale ou irrégulier à chromatine partiellement condensée et un nucléole proéminent (Figure 12).

Il existe également des formes variantes avec des cellules plus petites (20%) possédant une chromatine nucléaire condensée et un petit nucléole ou encore des aspects cérébriformes de type cellule de Sézary rarement observés (5%) (39-41).

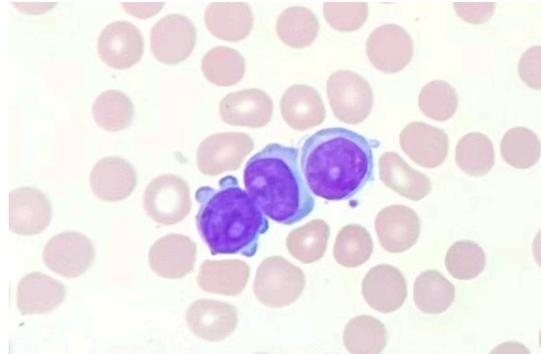


Figure 12 : Cellules sanguines de T-PLL observés au CHU de Limoges

Des infiltrats ganglionnaires et médullaires du clone T pourront également être observés. Cependant, l'étude de la MO n'est généralement pas nécessaire pour établir le diagnostic de T-PLL. Néanmoins, la présence d'un infiltrat pleural, péritonéal et/ou du liquide céphalorachidien (LCR) font partie des critères pour initier un traitement (détaillés plus loin dans ce manuscrit) (40-42).

II.1.1.4.2. Immunophénotypage

L'immunophénotypage des cellules retrouvées dans les T-PLL est celui de cellules T post-thymiques exprimant des marqueurs de cellules T matures tels que le CD2⁺, CD3⁺, CD5⁺, CD7⁺, CD16⁻, CD56⁻ ainsi qu'une expression variable du couple CD4⁺/CD8⁺ et une expression cytoplasmique de TCL1, ce dernier étant particulièrement intéressant pour le diagnostic mais également le suivi en CMF du clone tumoral. Les cellules de T-PLL sont généralement de phénotype αβ pour le TCR (39) (42).

II.1.1.4.3. Cytogénétique et biologie moléculaire

Classiquement les patients T-PLL présentent un caryotype complexe avec des caractéristiques génétiques récurrentes participant au diagnostic. Les altérations génétiques les plus fréquentes touchent principalement le chromosome 14 (40-42).

Dans près de 90% des cas, ces altérations se manifestent sous la forme d'une inversion, l'inv(14) (q11q32) et d'une translocation, t(14;14) (q11;q32) touchant TCL-1 ou bien sous la forme d'une translocation t(X;14)(q28;q11) impliquant MTCP1 (*mature T-cell proliferation 1*). Des délétions ou des mutations faux-sens sur le locus ATM en 11q23 peuvent également être retrouvés dans 80-90% des cas, de même que des mutations (14%) ou des délétions (31%) de TP53. Dans les formes sporadiques, d'autres anomalies chromosomiques ou génétiques ont notamment été mises en évidence sur les chromosomes 6 et 8 (41).

Avec les progrès du séquençage à haut débit ou next-generation sequencing (NGS), d'autres anomalies récurrentes ont été identifiées. En effet, il a été démontré qu'un certain nombre d'anomalies touchaient la voie de signalisation JAK/STAT (41).

II.1.1.5. Traitements

La pose du diagnostic d'une T-PLL n'est pas immédiatement associée à l'initiation d'un traitement. En effet, seuls les patients symptomatiques au stade de maladie active seront susceptibles d'être traités (38-41). A ce jour, aucune étude n'a permis de montrer que la mise en place d'un traitement chez des patients asymptomatiques permettrait une meilleure évolution de la pathologie. Ainsi, les patients au stade indolent de la maladie bénéficieront exclusivement d'une surveillance étroite clinico-biologique de leur pathologie avec la réalisation de numérations de la formule sanguine et d'examen cliniques mensuels (38-41). A l'inverse, lorsque la T-PLL est symptomatique, un traitement pourra être mis en place. Récemment, *Staber et al.* ont proposé une série de critères (Tableau 3) permettant de déterminer le caractère actif de la T-PLL en évaluant les symptômes, l'insuffisance médullaire, la lymphocytose et l'atteinte extra-sanguine (41).

Tableau 3 : Critères d'initiation du traitement d'après *Staber et al.* (41)

Symptômes constitutionnels liés à la maladie	Fatigue importante : ECOG \geq 2 Perte de poids involontaire > 10 % du poids corporel normal en < 6 mois Sueurs nocturnes abondantes, sans signe d'infection Fièvre supérieure à 38 °C, sans signe d'infection
Insuffisance médullaire symptomatique	Hémoglobine < 10 g/dL Numération plaquettaire < 100 G/L
Expansion des ganglions lymphatiques, de la rate et du foie	> 50 % en 2 mois et doublement du diamètre en < 6 mois Hypertrophie symptomatique des ganglions lymphatiques, de la rate ou du foie
Augmentation de la lymphocytose	Si > 30 G/L : > 50 % en 2 mois et doublement du diamètre en < 6 mois
Atteinte extra-ganglionnaire	Infiltration d'organes, épanchement péritonéal ou pleural, atteinte du système nerveux central

ECOG : *Eastern Cooperative Oncology Group*

Le traitement de la T-PLL repose en première ligne sur l'utilisation de l'alemtuzumab, un anticorps monoclonal anti-CD52 exprimé fortement à la surface des cellules de T-PLL naïves de traitement (43). En effet, d'après un certain nombre d'étude, l'utilisation de l'alemtuzumab pendant 10 à 12 semaines permettrait d'obtenir un taux de réponse globale (ORR) supérieur à 90% et une survie sans progression (PFS) supérieure aux autres thérapeutiques (entre 8 et 11 mois). Cependant, en général, les patients rechuteront moins de 2 ans après la rémission. Afin de prolonger la durée de rémission, les patients éligibles se verront proposer un traitement de consolidation sous la forme d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (HSCT) (39-42). Les chimiothérapies types CHOP et CHOP-like, conventionnellement prescrites dans les lymphopathies T, ne présentent qu'une efficacité limitée sur la T-PLL avec un ORR de 33% et une médiane de survie de 7 mois (39). Après rechute, le pronostic de la T-PLL reste sombre et les cures de sauvetages permettront d'atteindre un ORR entre 50 et 76% mais seulement sur une courte durée avec une survie globale (OS) entre 6 et 9 mois. Un certain nombre de données préliminaires semblent indiquer des résultats prometteurs pour de nouvelles thérapeutiques que sont les inhibiteurs de la protéine pro-apoptotique, Bcl-2 mais également, les inhibiteurs d'HDAC et de JAK3. Cependant, des données supplémentaires récoltées lors d'essais cliniques seront nécessaires pour s'assurer de leur efficacité *in vivo* (41).

II.1.1.6. Évolution

L'évaluation de la réponse au traitement proposée par *Staber et al.* repose sur l'évolution de divers critères sous l'effet du traitement. Cette réponse peut être stratifiée en quatre groupes distincts (Tableau 4).

Tableau 4 : Critères de réponse aux traitements d'après *Staber et al.* (41)

Rémission complète (RC)	Groupe A : paramètres spécifiques de T-PLL	Ganglions lymphatiques	Diamètres du grand axe < 1,0 cm
		Rate	Taille < 13 cm
		Symptômes constitutionnels	Aucun
		Lymphocytes circulants	< 4 G/L
		Moelle osseuse	Cellules de T-PLL < 5% des cellules mononucléaires
		Atteinte extra-ganglionnaire	Aucune
	Groupe B : paramètres indirects évaluant la fonction du système hématopoïétique	Plaquettes	≥ 100 G/L
		Hémoglobine	≥ 11,0 g/dL (en absence de transfusion)
Polynucléaires neutrophiles		≥ 1,5 G/L	
Rémission partielle (RP) au moins 2 critères du groupe A et au moins 1 critère du groupe B	Groupe A : paramètres spécifiques de T-PLL	Ganglions lymphatiques	Diminution ≥ 30% de la somme des diamètres de grand axe de 3 lésions
		Rate	Diminution ≥ 50% de la longueur verticale
		Symptômes constitutionnels	Au moins 1
		Lymphocytes circulants	≤ 30 G/L et diminution ≥ 50%
		Moelle osseuse	Tout résultat autre que RC
		Atteinte extra-ganglionnaire	Au moins 1
	Groupe B : paramètres indirects évaluant la fonction du système hématopoïétique	Plaquettes	≥ 100 G/L ou augmentation ≥ 50%
		Hémoglobine	≥ 11,0 g/dL ou augmentation ≥ 50%
Polynucléaires neutrophiles		≥ 1,5 G/L ou augmentation ≥ 50%	
Progression de la maladie (PM)	Groupe A : paramètres spécifiques de T-PLL	Ganglions lymphatiques	Augmentation ≥ 20% de la somme des diamètres de grand axe de 3 lésions
		Rate	Augmentation ≥ 50% de la longueur verticale
		Symptômes constitutionnels	Au moins 1
		Lymphocytes circulants	≥ 50% de la valeur normale
		Moelle osseuse	Tout résultat autre que RC
		Atteinte extra-ganglionnaire	Au moins 1
	Groupe B : paramètres indirects évaluant la fonction du système hématopoïétique	Plaquettes	Diminution ≥ 50% de la valeur normale
		Hémoglobine	Diminution ≥ 2 g/dL de la valeur normale
Polynucléaires neutrophiles		Diminution ≥ 50% de la valeur normale	
Maladie stable (MS)	Pour tous les patients	N'ayant pas obtenu de rémission complète ou partielle sans présenter d'évolution de la maladie pendant au moins 3 mois	

II.1.2. Leucémie à grands lymphocytes T granuleux

La leucémie à grands lymphocytes T granuleux (T-LGLL) est une hémopathie lymphoproliférative chronique des cellules T matures fréquemment associée à des maladies auto-immunes (44-45).

II.1.2.1. Épidémiologie

Cette hémopathie rare représente environ 2 à 5% des lymphomes non hodgkiniens dans les pays occidentaux contre 5 à 6% en Asie. Le clone tumoral est majoritairement constitué de LT mais peut également, plus rarement, être constitué de cellules NK (10%) (45). La T-LGLL est principalement retrouvée chez les sujets âgés avec un âge médian d'environ 60 ans. A ce jour, il n'a pas été démontré de prédominance liée au sexe, à l'ethnie ou encore de prédisposition génétique (46).

II.1.2.2. Physiopathologie

La physiopathologie de cette hémopathie n'est pas encore complètement élucidée. L'hypothèse la plus probable serait le résultat d'une exposition antigénique chronique (auto-antigène ou infection) associée à une dérégulation intrinsèque (mutations) et extrinsèque (microenvironnement) de l'homéostasie. En effet, suite à une stimulation antigénique, il est envisagé que les antigènes soient présentés par les cellules dendritiques au niveau de la MO. Des études ont montré que ces 2 types cellulaires présentent une colocalisation médullaire dans les T-LGLL et les NK-LGLL (46). Cependant, aucune étude n'a permis de mettre en évidence l'implication d'antigènes viraux connus tel qu'HTLV-1, le cytomégalo virus (CMV) ou encore le virus d'Epstein-Barr (EBV) (44) (46).

Une fois constitué, ce pool de cellules immunitaires recevra des stimuli proinflammatoires sous la forme de cytokines telles que l'interleukine-1 β (IL-1 β), l'interleukine 6 (IL-6), l'interféron γ (IFN γ), le ligand de chimiokine 9 (CXCL9) ou encore le ligand de chimiokine 5 (CCL5) ainsi que l'interleukine 15 (IL-15) fréquemment identifiés comme étant des activateurs majeurs de signaux de survie (46). Cet environnement pro-inflammatoire n'est pas uniquement engendré par les cellules leucémiques, mais également par les cellules capables de répondre de façon physiologique à une stimulation antigénique grâce à des mécanismes cellulaires de costimulation (46). Pour finir, de nombreuses voies de signalisation (Figure 13) semblent également être à l'origine de la survie des grands lymphocytes T granuleux (T-LGL) clonaux comme :

- Un dysfonctionnement dans le système de mort cellulaire induite par l'activation (AICD) à l'origine d'une résistance à l'apoptose induite par la voie Fas (46).
- Une hyperactivation de la voie STAT3, un facteur de transcription de nombreux oncogènes, impliqué dans la survie cellulaire et qui a également été décrit comme étant à l'origine de neutropénies par le biais de l'activation de la voie STAT3-miR146b-FasL. miR146b est un microARN ciblant un stabilisateur de FasL favorisant les phénomènes d'apoptose dépendante de Fas (46).
- Une augmentation de l'activation des voies PI3K-AKT et NF- κ B permettant une inhibition des mécanismes d'apoptose (46).
- Une activation de la voie Ras/MEK/ERK à l'origine d'une accumulation de cellules NK (46).

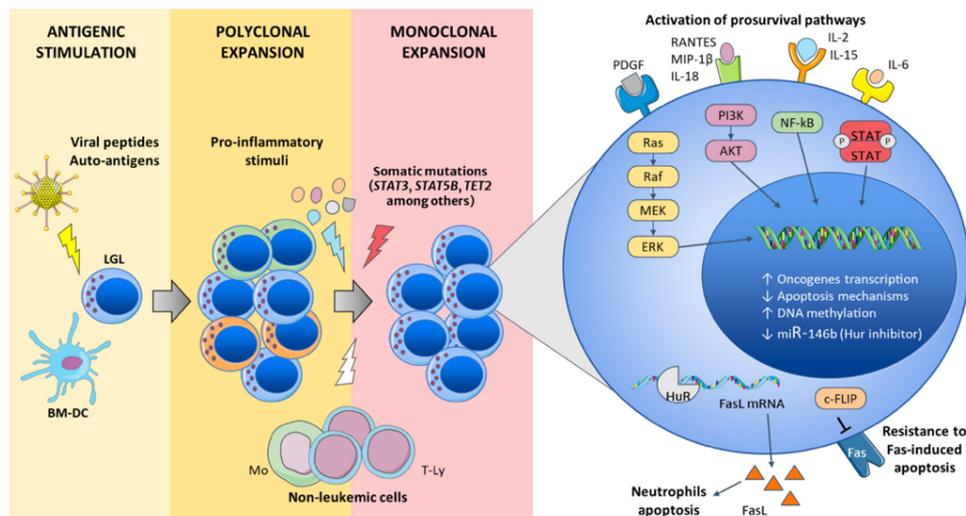


Figure 13 : Physiopathologie de la T-LGLL d'après *Semenzato et al.* (46)

Par conséquent, les LGL peuvent également être retrouvés en condition réactionnelle telles que lors d'infections (dont l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine), les splénectomies, les greffes allogéniques de CSH ou encore dans les transplantations d'organes solides (47). Cependant, les concentrations en LGL seront significativement inférieures à celles retrouvées dans les hémopathies à LGL. En effet, en condition réactionnelle, les concentrations retrouvées seront inférieures à 0,3 G/L contre 2 à 20 G/L dans les T-LGLL (44) (46). De plus, comme les LT normaux, les T-LGL leucémiques peuvent être $\alpha\beta$ exprimant $CD8^+$, $CD4^+$ ou $CD4^+/CD8^\pm$ et plus rarement $\gamma\delta$ (44-45).

II.1.2.3. Clinique

Dans les formes $CD8^+$, les patients sont généralement asymptomatiques ou peuvent présenter quelques désordres immunologiques. D'un point de vue non immunologique, les signes cliniques sont généralement non spécifiques. En effet, il est possible de ne retrouver au diagnostic qu'une neutropénie, une anémie ou encore une splénomégalie. Dans les cas de neutropénies sévères, des infections bactériennes, virales ou fongiques récurrentes ainsi que des manifestations buccales (aphtes ou ulcérations buccales) peuvent être retrouvées. Des anémies plus sévères, nécessitant une transfusion, sont également rapportées. Des désordres auto-immuns hématologiques (anémie hémolytique auto-immune, thrombocytopénie auto-immune) ou non hématologiques tels que la polyarthrite rhumatoïde ou les endocrinopathies auto-immunes (thyroïdite) sont fréquemment observés au diagnostic. Pour finir, des néoplasies secondaires hématologiques peuvent également être retrouvées (46-47).

Dans les formes $CD4^+$, les patients sont, comme dans les formes $CD8^+$, généralement asymptomatiques. A l'inverse, ils ne présenteront pas de désordres immunologiques, ni de cytopénies mais principalement des tumeurs solides (46).

Dans les formes $\gamma\delta$, les formes sont plus souvent symptomatiques et de moins bon pronostic avec un recours indispensable à des traitements (46).

II.1.2.4. Diagnostic

Le diagnostic de T-LGLL (Tableau 5) doit être évoqué devant la présence de cytopénies inexpliquées chez des patients avec mise en évidence d'une population de LGL en cytologie et/ou par CMF (46).

Tableau 5 : Critères diagnostiques d'après *Semenzato et al.* (46)

Critères diagnostiques
> 2 G/L de clone T-LGLL dans le sang périphérique > 0,5 G/L de clone T-LGLL dans le sang périphérique associé à des cytopénies inexplicables
Clonalité T détectée par biologie moléculaire
> 6 mois
Présence de mutations STAT3 ou STAT5B

Par ailleurs, l'étude des caractéristiques cytologiques et moléculaires de la MO peut être effectuée afin d'exclure d'autres causes de cytopénies mais, ne fait pas partie des recommandations pour le diagnostic de T-LGLL (46).

II.1.2.4.1. Cytologie

Les cellules observées dans les T-LGLL dans le sang présentent un cytoplasme modéré à abondant contenant des granulations azurophiles, difficilement différenciables des lymphocytes T cytotoxiques activés suite à une infection ou une maladie auto-immune (Figure 14) (45).

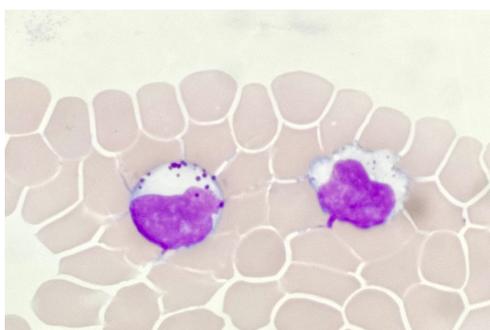


Figure 14 : Cellules sanguines de T-LGLL du patient 39

Par conséquent, le développement de méthodes moléculaires permettant de confirmer la clonalité T-LGL est essentielle afin de différencier le diagnostic de T-LGLL, des autres affections bénignes présentant des caractéristiques cytologiques comparables (45).

II.1.2.4.2. Immunophénotypage

L'immunophénotypage des cellules retrouvées dans les T-LGLL est celui de cellules T post-thymiques $CD3^+$, $TCR\alpha\beta^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD57^+$ et $CD5^{dim}$. Une perte anormale d'expression de CD5 et/ou CD7 est fréquente et l'expression de CD57 et CD16 se produit dans plus de 80 % des cas de T-LGLL. L'expression d'autres marqueurs NK est également possible (CD56, cTIA1, perforine, granzyme B...). D'autres variants peuvent exprimer $CD4^+$ ou un $TCR\gamma\delta^+$, mais ces derniers sont plus rares que les formes $CD8^+$ (45).

II.1.2.4.3. Biologie moléculaire

Comme vu précédemment dans la physiopathologie des T-LGLL, les lymphocytes clonaux présenteront un développement comparable aux LT normaux au détail près que les premiers ne présenteront pas de variabilité au niveau des différentes régions des chaînes du TCR du fait de leur caractère clonal. Cette particularité a donc été exploitée pour réaliser le diagnostic de T-LGLL tout d'abord grâce à des techniques de BM telles que le *Southern blot* puis, la réaction en chaîne par polymérase (PCR) (45-46).

II.1.2.4.4. Auto-immunité

Il est également possible de retrouver des stigmates de désordres immuns au diagnostic. En effet, la positivité du facteur rhumatoïde, d'anticorps antinucléaires, antiplaquettes ou antineutrophiles ou encore des tests de Coombs, des hyper- ou hypogammaglobulinémie, des gammopathies monoclonales et des élévations de taux de β 2-microglobuline sont fréquentes (47).

II.1.2.5. Traitements

La pose du diagnostic d'une T-LGLL n'entraîne pas nécessairement la mise en place d'un traitement. En effet, seuls les patients neutropéniques (< 0,5 G/L) ou symptomatiques, dont l'anémie nécessite des transfusions ou avec une pathologie auto-immune présentent une indication au traitement (Tableau 6) (45-46).

Tableau 6 : Arsenal thérapeutique adapté d'après *Park et al.* (45) et *Semenzato et al.* (46)

1 ^{ère} intention	Méthotrexate	Polyarthrite rhumatoïde Mutation STAT3
	Cyclophosphamide	Anémie prédominante
	Cyclosporine	Échec des autres traitements
2 ^e intention	Analogues des purines (fludarabine, bendamustine)	Échec des autres traitements
	Alemtuzumab	Échec des autres traitements
	Rituximab	Échec des autres traitements et polyarthrite rhumatoïde
	Splénectomie	Splénomégalie ou cytopénie réfractaire
	Greffe de CSH	Patients jeunes avec des formes réfractaires

Un traitement symptomatique comprenant des antibiotiques, de l'érythropoïétine et/ou des facteurs stimulant la croissance des granulocytes (G-CSF) peut également être débuté. Néanmoins, l'utilisation du G-CSF ne sera possible que dans des situations spécifiques puisqu'il peut aggraver la splénomégalie ou les symptômes articulaires (45).

II.1.2.6. Évolution

Cette hémopathie lymphoproliférative indolente se manifeste généralement au diagnostic par des cytopénies modérées pouvant s'aggraver et favoriser les infections chez les patients neutropéniques. La survie à 10 ans de ces patients est en moyenne de 70% et les infections sévères constituent la cause majeure de décès dans cette population. Ainsi les patients doivent bénéficier d'un suivi régulier de leurs symptômes et de l'évolution de leur maladie indépendamment de leur statut de prise en charge (45).

II.1.3. Syndrome de Sézary

Le syndrome de Sézary (SS) fait partie, avec le *mycosis fungoïdes* (MF), des lymphomes cutanés T les plus fréquemment retrouvés. Alors que le MF constitue une forme majoritairement dermatologique, indolente et d'évolution favorable, le SS constitue la forme leucémique de la pathologie (48) pouvant se révéler directement ou évoluer à partir d'un MF déjà connu par ailleurs.

II.1.3.1. Épidémiologie

Les lymphomes cutanés T sont des lymphopathies rares représentant 4% des lymphomes non Hodgkiniens. Le SS et le MF constituent à eux deux les deux tiers des lymphomes cutanés T. Ces deux pathologies présentent une prédominance masculine et l'âge médian au diagnostic est de 55-60 ans (49). Enfin, l'ethnie est également à prendre en considération dans ce type de pathologie avec une incidence plus élevée dans les populations noires et un âge médian au diagnostic plus bas par rapport aux populations caucasiennes. A l'inverse, aucune prédisposition génétique ne semble impliquée dans le développement de ce type de lymphome (48).

II.1.3.2. Physiopathologie

La physiopathologie reste à préciser mais il semblerait que tout comme pour la T-LG2L, une stimulation antigénique chronique ou par des super-antigènes soit à l'origine d'une expansion clonale des cellules T mémoires. Des études ont cherché à investiguer l'influence de l'environnement et principalement des radiations, des agents chimiques et des infections (en particulier par HTLV-1) sans pour autant mettre en évidence d'impact significatif sur cette lymphopathie (50).

II.1.3.3. Clinique

Dans ses formes typiques, le SS se manifeste par une érythrodermie (érythème sur une surface corporelle supérieure ou égale à 80%) (Figure 15) souvent exfoliative, intensément prurigineuse et chronique sur plusieurs mois, voire années. Une kératodermie palmoplantaire, des anomalies des ongles, une alopécie ainsi que des lymphadénopathies sont également fréquemment retrouvées au diagnostic. Plus rarement, les patients pourront présenter un faciès léonin (48) (50).



Figure 15 : Érythrodermie chez un patient atteint de SS d'après *Spicknall et al.* (50)

Pour finir, le SS peut également être associé à une altération de l'immunité cellulaire et humorale facilitant l'apparition d'infections opportunistes ainsi qu'à un risque augmenté de tumeur secondaire (autres types de lymphomes) (48).

II.1.3.4. Diagnostic

Malgré l'arsenal thérapeutique mis à la disposition des cliniciens pour prendre en charge le SS, son pronostic reste sombre. En ce sens, la précocité du diagnostic est essentielle à l'obtention d'une bonne réponse thérapeutique (49). Le diagnostic de SS repose sur les signes cliniques ainsi que les critères biologiques représentés dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Critères diagnostiques d'après *Semenzato et al.* (46)

Critères diagnostiques
Cellules de Sézary > 1 G/L Ou ratio CD4/CD8 ≥ 10 Ou augmentation des cellules avec un phénotype anormal : cellules CD4 ⁺ CD7 ⁻ ≥ 40% ou CD4 ⁺ CD26 ⁻ ≥ 30%
Réarrangement clonal du TCR

Le diagnostic de SS sera ensuite complété par une stadification de la maladie en fonction des atteintes cutanées, ganglionnaires, viscérales et sanguines (Tableau 8 et 9).

Tableau 8 : Description des atteintes observées dans le SS d'après *Lee et al.* (48)

Atteintes cutanées (T)
T0 : absence de lésions suspectes T1 : lésions cutanées limitées érythémateuses non infiltrées, papules ou plaques < 10% de SC T1a : lésions érythémateuses non infiltrées (patches) T1b : plaques T2 : lésions cutanées érythémateuses non infiltrées, papules ou plaques > 10% de SC T2a : lésions érythémateuses non infiltrées (patches) T2b : plaques T3 : une ou plusieurs tumeurs (une tumeur est définie par une taille > à 1 cm) T4 : érythrodermie (surface corporelle atteinte > 80 %)
Statut ganglionnaire (N)
N0 : pas d'adénopathie périphérique palpable (pas de biopsie) N1 : adénopathie périphérique palpable (Dutch grade 1 ou NCI LNO-2) N1a : pas de clone (ou équivoque) N1b : clone présent et identique à celui de la peau N2 : adénopathie périphérique palpable (Dutch grade 2 ou NCI LN3) N2a : pas de clone (ou équivoque) N2b : clone présent et identique à celui de la peau N3 : adénopathie périphérique palpable (Dutch grade 3-4 ou NCI LN4) N3a : pas de clone (ou équivoque) N3b : clone présent et identique à celui de la peau Nx : adénopathie périphérique palpable sans confirmation histologique
Statut viscéral (M)
M0 : pas d'atteinte viscérale M1 : atteinte viscérale M1a : atteinte uniquement médullaire (clone positif, négatif ou indéterminé) M1b : atteinte viscérale non médullaire (clone positif, négatif ou indéterminé) Mx : atteinte viscérale ni confirmée ni infirmée par l'évaluation pathologique ou d'imagerie
Atteintes sanguines (B)
B0 : pas d'atteinte sanguine significative (< 5% de cellules de Sézary circulantes) B0a : pas de clone (ou équivoque) B0b : clone présent et identique à celui de la peau B1 : faible charge tumorale sanguine (cellules de Sézary circulantes > 5% et < 1 000/μL) B1a : pas de clone (ou équivoque) B1b : clone présent et identique à celui de la peau B2 : charge tumorale sanguine élevée (cellules de Sézary circulantes > 1 000/μL) avec un clone T majoritaire CD4/CD8 ≥10, CD4 ⁺ CD7 ⁻ ≥ 40% ou CD4 ⁺ CD26 ⁻ ≥ 30%

SC : surface cutanée

Tableau 9 : Classification des SS d'après Lee et al. (48)

IVA1 (OS à 3,8 ans) Envahissement sanguin important sans adénopathies spécifiques	Atteintes cutanées (T)	T1 à T4
	Statut ganglionnaire (N)	N0 à N2
	Statut viscéral (M)	M0
	Atteintes sanguines (B)	B2
IVA2 (OS à 2,1 ans) Envahissement sanguin important avec adénopathies spécifiques	Atteintes cutanées (T)	T1 à T4
	Statut ganglionnaire (N)	N3
	Statut viscéral (M)	M0
	Atteintes sanguines (B)	B0 à B2
IVB (OS à 1,4 ans) Atteintes viscérale	Atteintes cutanées (T)	T1 à T4
	Statut ganglionnaire (N)	N0 à N3
	Statut viscéral (M)	M1
	Atteintes sanguines (B)	B0 à B2

OV (*overall survival*) : survie globale

Cependant, le diagnostic de SS reste complexe. En effet, parmi les diagnostics différentiels possibles, peuvent être retrouvés d'autres causes d'érythrodermie tel que le psoriasis érythrodermique, la dermatite atopique érythrodermique, l'érythrodermie secondaire à un médicament ou bien d'autres leucémies présentant des atteintes cutanées telles que la T-PLLL ou la leucémie à cellules T de l'adulte (48) (50).

II.1.3.4.1. Cytologie

Les cellules de Sézary sont caractérisées par la présence d'un noyau cérébriforme à chromatine légèrement condensé et pouvant contenir des nucléoles peu visibles. Leur cytoplasme non granulaire quant à lui, peut-être plus ou moins abondant (Figure 16) (3).

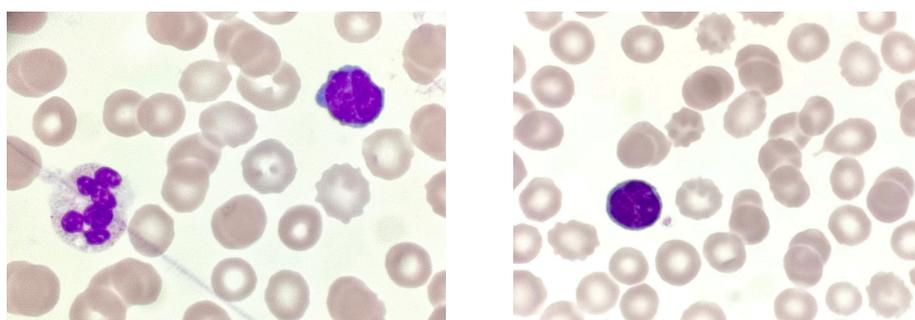


Figure 16 : Cellule de Sézary dans le sang périphérique du patient 7

Les cellules de Sézary peuvent également être retrouvées dans les ganglions lymphatiques, les biopsies cutanées mais aussi envahir la moelle osseuse (3).

II.1.3.4.2. Immunophénotypage

L'immunophénotypage des cellules de Sézary, similaire à celui retrouvé dans le MF, comprend généralement l'expression de CD2, CD3, CD5, CD4, CD25 et TCR $\alpha\beta$ et l'absence de CD7 et CD26 caractéristique (3). Un autre marqueur cellulaire de surface, membre de la famille des récepteurs de type immunoglobuline des cellules tueuses (KIR), KIR3DL2, peut également être utilisé dans le diagnostic du SS (49) (51).

Initialement exprimé par les cellules NK et quelques LT CD8⁺, des études et notamment celle d'*Hurabielle et al.* ont démontré que KIR3DL2 était à la fois le marqueur le plus sensible dans le diagnostic de SS mais également, qu'il s'agissait d'un marqueur pronostic de la mort des cellules de Sézary (49) (51).

II.1.3.4.3. Cytogénétique et biologie moléculaire

Classiquement les patients présentent des aberrations chromosomiques pouvant être détectées par analyse cytogénétique. Parmi ces aberrations chromosomiques, seront fréquemment retrouvées une monosomie du chromosome 10, des pertes de 10q et 17p, des gains de 8q24 et 17q ainsi que diverses altérations structurales impliquant ces régions. Cependant, aucune anomalie spécifique n'a été mise en évidence à ce jour (3).

II.1.3.5. Traitements

La prise en charge du SS est à la fois complexe, multidisciplinaire et relativement peu documentée au vu des difficultés diagnostiques de cette pathologie (rareté, manque de consensus sur les paramètres diagnostiques et sous-diagnostic). De plus, les traitements actuellement disponibles ne permettent généralement pas d'obtenir une réponse complète et durable, à l'exception faite de la greffe de moelle osseuse (50).

Plusieurs principes importants sont à retenir dans la prise en charge du SS, parmi lesquels sont retrouvés la minimisation de l'utilisation des immunosuppresseurs afin de maintenir le peu d'immunité qui n'aurait pas été supprimée par la pathologie et ainsi, réduire les risques d'infection parfois mortelles. L'utilisation d'agent de chimiothérapie doit être programmée sur de courtes périodes afin de minimiser les effets indésirables à long terme au vu de leur efficacité limitée ainsi que la surveillance et le contrôle d'éventuelles infections grâce à l'éradication du portage nasal du staphylocoque, l'utilisation de mupirocine, de bains d'eau de Javel diluée, de lavages à la chlorhexidine et/ou d'antimicrobiens oraux peuvent être mis en place (50).

Les traitements actuellement indiqués dans le SS sont généralement utilisés sous la forme d'associations entre une thérapie ciblant les lésions cutanées et un traitement systémique voire une thérapie intensive ou curative dans certains cas particuliers. Parmi les traitements de première intention, diverses possibilités sont disponibles et comprennent notamment l'utilisation de la photophérese (ou photochimiothérapie extracorporelle), technique de thérapie cellulaire permettant de moduler la réponse immunitaire cellulaire. Elle consiste à traiter des cellules mononuclées par lumière ultraviolette en présence de psoralène avant de les réinjecter au patient (52). D'autres alternatives peuvent également être utilisées en association telles que l'interféron α (IFN α), le bexarotène (antinéoplasique) ou encore de faibles doses de méthotrexate. A ces thérapies systématiques, des traitements ciblant la peau pourront également être associés. Ces traitements comprennent entre autres la PUVAthérapie (association de rayons ultraviolets à la prise de psoralène) (52), la méchloréthamine (chimiothérapie locale), la thérapie par faisceau d'électrons sur la peau totale (TSEBT) ainsi que les corticoïdes locaux (50). Concernant les traitements de seconde intention, des chimiothérapies à agent unique (doxorubicine, gemcitabine, chlorambucil, étoposide, cyclophosphamide, témozolomide et méthotrexate à forte dose) ou multiples (fludarabine et cyclophosphamide ou cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et prednisone ou CHOP), des inhibiteurs d'histone désacétylase (romidespine, agit sur le prurit) ou des immunothérapies ciblées (mogalumizumab ou brentuximab védotine) pourront être proposés.

Pour finir, la greffe de CSH est une option thérapeutique envisageable à visée curative, principalement chez les sujets jeunes atteints par des stades avancés de la maladie, au vu de ses risques de morbi-mortalité élevés (48) (50). De nouvelles molécules, en cours de développement, ciblant les marqueurs KIR3DL2 (surexprimé dans le SS), CD3 (pan-T), CD25 (récepteur de l'IL-2), PD-1 (point de contrôle immunitaire) ou PI-3K (transducteur de signal), sont également à l'étude pour élargir l'arsenal thérapeutique du SS (50).

II.1.3.6. Évolution

De par son instabilité chromosomique importante, le SS est une hémopathie présentant un mauvais pronostic. En effet, la survie médiane après le diagnostic est de 4 ans, avec une survie globale de 42,3%, 5 ans après le diagnostic (48).

II.2. Lymphome anaplasique à grandes cellules

Les lymphomes anaplasiques à grandes cellules constituent un groupe de trois sous-entités associant le lymphome anaplasique à grandes cellules ALK négatif (ALK-ALCL), le lymphome anaplasique à grandes cellules ALK positif (ALK+ALCL) et le lymphome anaplasique à grandes cellules associé aux implants mammaires (BIA-ALCL). Les signes cliniques, les modifications génétiques, les pronostics et les traitements étant différents pour les trois types (53-54), seuls les ALK-ALCL et les BIA-ALCL, sous-entités présentes dans la cohorte de patients étudiée dans ce manuscrit seront abordés.

II.2.1. Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK négatif

II.2.1.1. Épidémiologie

L'ALK-ALCL est une lymphopathie rare représentant 1 à 3% des lymphomes non Hodgkiniens. La population la plus touchée par cette pathologie est composée d'adultes âgés de 40 à 65 ans, à noter que généralement, l'ALK-ALCL touche principalement les hommes dans leur sixième décennie. En effet, les hommes sont légèrement plus enclins à développer la maladie que les femmes (53).

Actuellement, aucun facteur prédisposant n'a été retrouvé comme étant impliqué dans le développement du ALK-ALCL. En effet, contrairement à la plupart des lymphomes à cellules T, l'EBV ne semble pas impliqué dans la physiopathologie des ALK-ALCL (53).

II.2.1.2. Physiopathologie

Contrairement à la physiopathologie du ALK+ALCL, celle du ALK-ALCL reste assez peu connue. A ce jour, deux réarrangements récurrents ont pu être identifiés dans les ALK-ALCL. Le premier impliquant DUSP22 sur le chromosome 6 dans 30% des cas et le second, impliquant TP63 (homologue de TP53) sur le chromosome 3 dans 8% des cas (54-55). Historiquement, les réarrangements DUSP22 sont de meilleurs pronostiques que ceux impliquant TP63 (54). DUSP22 (aussi connue sous le nom de phosphatase associée à la voie de la c-Jun N-terminal kinase) est un suppresseur de tumeur jouant un rôle dans l'inhibition de la voie de signalisation du TCR des LT et ainsi, dans la favorisation de la mise en place d'un environnement inflammatoire et d'une expansion cellulaire. A l'inverse, TP63 code pour une protéine de fusion p63 présentant des structures homologues avec l'oncogène $\Delta Np63$. D'autres mutations de JAK1 et STAT3 impliquées dans la voie de signalisation JAK-STAT (Figure 17), ont également été identifiées dans 20% des cas. Cependant, ces mutations ne sont retrouvées qu'en l'absence de réarrangement de DUSP22 (53-55).

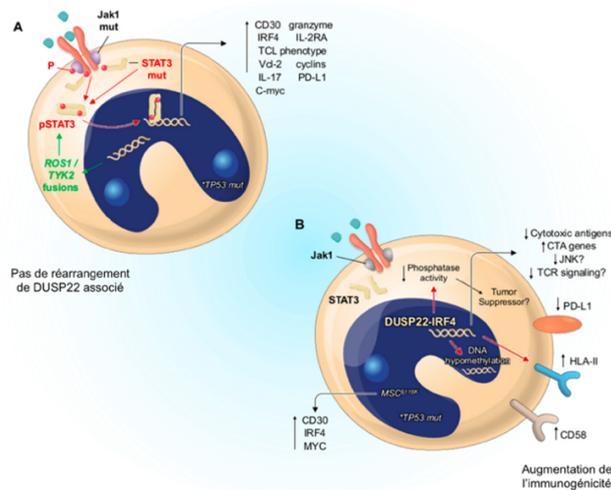


Figure 17 : Principales mutations impliquées dans les ALK-ALCL d'après *Zhang et al.* (53)
A : mutations JAK1 et STAT3 sans réarrangement de DUSP22 associé
B : réarrangement de DUSP22-IRF4

En utilisant des méthodes de détermination du profil de méthylation des ALK-ALCL, il a été découvert que celui-ci comportait des similarités avec celui des précurseurs thymiques doublement positifs, probablement impliqués dans le développement de ce lymphome. Néanmoins, d'autres sous-types de cellules T sont également envisagés comme pouvant être à l'origine des ALK-ALCL tels que les LT matures activés, les LT régulateurs, les LT mémoires ou encore les LT *helpers* comme indiqué sur la Figure 18. Cependant, les mécanismes précis conduisant à la constitution de ce type de lymphome restent à investiguer (53).

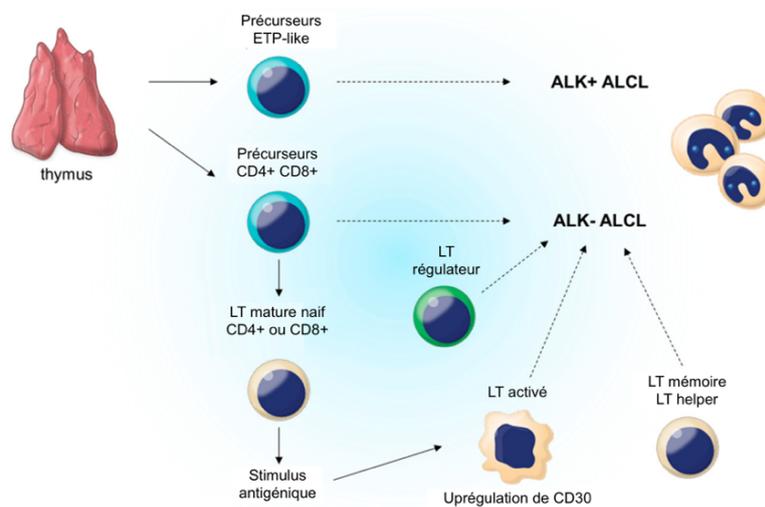


Figure 18 : Physiopathologie possible des ALCL d'après *Zhang et al.* (53)

II.2.1.3. Clinique

Les patients atteints de formes avancées de la maladie présentent généralement des symptômes B systémiques, une organomégalie ainsi que de multiples adénopathies. En effet, environ 50% des cas possèdent une atteinte des ganglions lymphatiques. A l'inverse les atteintes extranodales au niveau de la peau, des tissus mous, du foie ou encore des poumons, sont moins fréquentes (53).

De manière générale, des lésions cutanées sous la forme de papules, nodules ou tumeurs pourront également être retrouvées. Enfin, la présentation leucémique de ce lymphome est très rare et induira un pronostic défavorable pour le patient (53).

II.2.1.4. Diagnostic

Le diagnostic du ALK-ALCL est basé principalement sur la clinique ainsi que sur l'examen histopathologique et immunohistochimique des ganglions lymphatiques biopsiés qui permettra de mettre en évidence l'expression du marqueur CD30 et/ou l'expression ou la non expression de ALK par les cellules tumorales. Cependant, ce seul critère est insuffisant pour affirmer le diagnostic étant donné que le lymphome de Hodgkin ainsi que le lymphome à cellules T périphériques peuvent également exprimer le CD30 (53).

II.2.1.4.1. Cytologie

L'analyse anatomopathologique des ganglions met généralement en évidence la présence d'une tumeur cohésive pouvant atteindre les sinus, composée de grandes cellules atypiques avec un abondant cytoplasme, un noyau excentré pléomorphe réniforme, en forme de fer à cheval ou encore en forme de *doughnut* et des nucléoles proéminents (54). Les cellules sanguines et médullaires pouvant également être observées présentent des caractéristiques similaires à celles précédemment décrites (Figure 19).

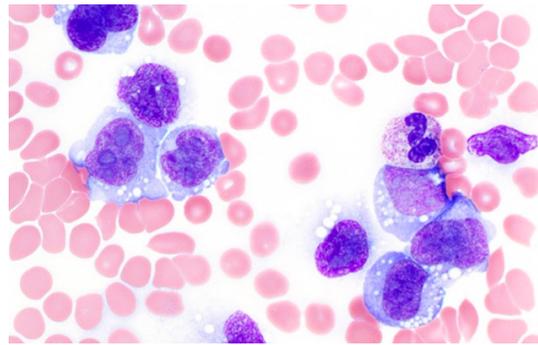


Figure 19 : Cellules d'ALK-ALCL d'après *Pina-Oviedo et al.* (54)

II.2.1.4.2. Immunophénotypage

L'immunophénotypage des cellules retrouvées dans les ALK-ALCL sera principalement réalisé en anatomopathologie sur les biopsies ganglionnaires. En effet, la CMF ne permettra pas à elle seule d'établir le diagnostic en raison du manque de marqueurs et notamment de CD30 et ALK que l'on peut en revanche étudier sur des biopsies par immunohistochimie. Les cellules ALK-ALCL expriment généralement CD30 (> 75% des cellules), CD5, CD3, CD7, CD2 et une expression paradoxale de CD4 et CD8 (53).

II.2.1.4.3. Cytogénétique et biologie moléculaire

Classiquement les patients posséderont un réarrangement clonal des gènes du TCR, une translocation du locus DUSP22-IRF4 du chromosome 6 sur le chromosome 7, t(6;7)(p25.3;q32.3), des mutations de JAK1 et/ou STAT3, des gains ou pertes récurrentes, une coexpression ectopique des gènes ERBB4 et COL29A1 ou encore des réarrangements du gène TP63 sous la forme d'inversion, inv(3)(q26q28), conduisant à l'obtention d'une protéine de fusion TBL1XR1/TP63. Des anomalies chromosomiques complexes peuvent également être retrouvées et seront associées à un mauvais pronostic (45) (47).

II.2.1.5. Traitements

Le traitement du ALK-ALCL repose toujours sur l'utilisation de chimiothérapie selon le protocole CHOP malgré une efficacité modérée. De nouvelles combinaisons thérapeutiques incluant notamment l'étoposide, ainsi que des chimiothérapies plus agressives ou encore des thérapies ciblant les mutations JAK/STAT telles que le ruxolitinib sont en cours d'étude (53).

II.2.1.6. Évolution

Historiquement, l'ALK-ALCL avec réarrangement de DUSP22 était connu pour avoir un excellent taux de survie à 5 ans contrairement aux formes présentant un réarrangement TP63 ou aucun des réarrangements cités. Cependant, une étude récente publiée en 2022 par *Qiu et al.* tend à modérer l'excellent taux de survie du ALK-ALCL avec réarrangement de DUSP22, pour le rapprocher de celui ne présentant pas de réarrangement de DUSP22 ni de réarrangement de TP63 (55).

II.2.2. Lymphome anaplasique à grandes cellules associé aux implants mammaires

II.2.2.1. Épidémiologie

Le BIA-ALCL est une complication très rare liée à la pose d'implants mammaires pouvant apparaître plusieurs années après l'intervention chirurgicale (8 ans et plus). Seuls 900 cas ont été actuellement rapportés dans le monde. De découverte récente, cette entité n'a été intégrée à la classification OMS qu'en 2016 (2) (56).

II.2.2.2. Physiopathologie

La physiopathologie de ce type d'ALCL est encore mal connue. Cependant, il semblerait que l'induction par l'implant mammaire d'une inflammation chronique et d'une réponse immune à long terme puisse être à l'origine du BIA-ALCL. Par ailleurs, il semblerait également que d'autres facteurs de risque puissent se surajouter tels que des facteurs génétiques, la présence d'une infection bactérienne ou encore la texture des implants (53). En effet, en 2019, les implants mammaires macro-texturés ont été retirés du marché dans plusieurs pays à cause de la mise en évidence de leur implication dans le développement des BIA-ALCL (53).

Parmi les mécanismes de physiopathologiques supposés, le recrutement à proximité de l'implant de LT et de macrophages est à l'origine de la génération d'une réponse immune Th1/Th17 et par conséquent, au recrutement supplémentaire de macrophages et de polynucléaires neutrophiles. Ce recrutement important de médiateurs de l'immunité entraîne la production et la libération d'un grand nombre de cytokines mais également l'activation de la voie JAK/STAT impliquée dans l'initiation de la transcription entraînant ainsi l'activation de la prolifération cellulaire (Figure 20) (53).

Concernant le lien entre infection bactérienne et BIA-ALCL celui-ci est encore théorique même si diverses populations bactériennes ont pu être retrouvées chez des patientes atteintes de BIA-ALCL (53).

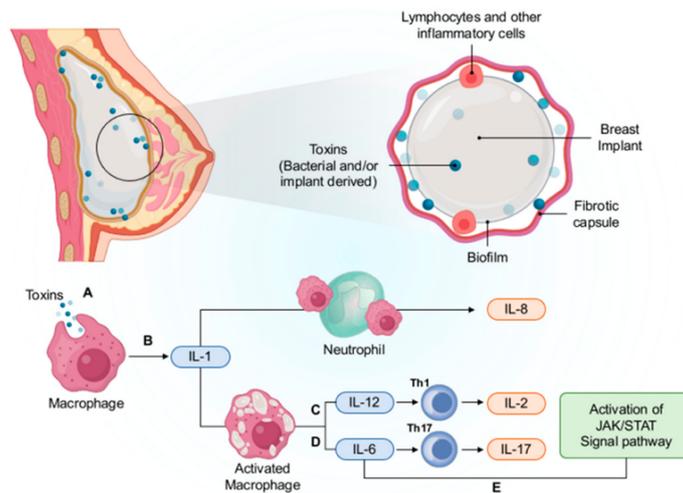


Figure 20 : Lien entre réponse immune et BIA-ALCL d'après Zhang *et al.* (53)

II.2.2.3. Clinique

Les BIA-ALCL sont généralement des lymphomes indolents se limitant dans la très grande majorité des cas à la capsule entourant l'implant mammaire. Une minorité de BIA-ALCL présenteront une infiltration au-delà de la capsule péri-prothétique voir même un envahissement des ganglions loco-régionaux ou d'un site à distance. Les signes cliniques sont peu spécifiques mais devront être recherchés chez une femme porteuse d'implants mammaires, les plus fréquents étant un épanchement péri-prothétique abondant, une augmentation du volume du sein, des douleurs, une inflammation, la constitution d'une masse, des ulcérations ou encore une altération de l'état général (53) (56).

II.2.2.4. Diagnostic

Le diagnostic de BIA-ALCL sera posé grâce à la concordance d'un faisceau d'arguments cliniques, d'imagerie ainsi qu'anatomopathologique par le biais de l'analyse du liquide péri-prothétique, si celui-ci est présent, ou bien par l'analyse du matériel ainsi que des pièces biopsiques suspectes (56).

II.2.2.4.1. Cytologie

Lorsqu'il est contenu dans la capsule péri-prothétique, le BIA-ALCL se présente sous la forme de grandes cellules anaplasiques à cytoplasme variable et au noyau plus ou moins irrégulier et pouvant être multiples (Figure 21) (3). A l'inverse, des amas reposant sur un tissu plus ou moins fibrotique peuvent également être retrouvés chez certaines patientes (3).

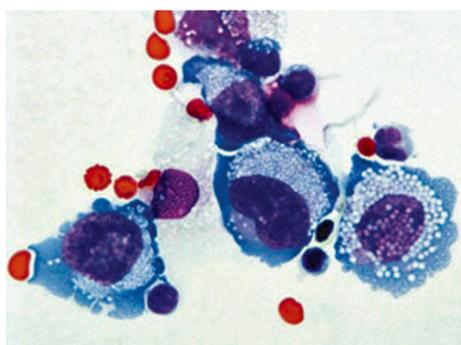


Figure 21 : Cellule de BIA-ALCL d'après Naeim *et al.* (3)

II.2.2.4.2. Immunophénotypage

Les cellules de BIA-ALCL sont généralement CD30⁺, ALK⁻, CD4⁺, CD43⁺, Bcl-2⁺, Ki-67 fort et souvent CD3⁺ et CD2⁺ (3). Ces marqueurs sont généralement étudiés par immunohistochimie sur des pièces de biopsies, puisque cette entité est le plus souvent localisée à la prothèse.

II.2.2.4.3. Cytogénétique et biologie moléculaire

Dans ce type de lymphome, des altérations de la voie JAK/STAT seront fréquemment rencontrées. Un certain nombre de cas ont permis de relier des gains 19p mais également des délétions 1p, 10p et 20p avec le développement de BIA-ALCL. Par ailleurs, plusieurs mutations ont été retrouvées tel que les mutations STAT3^{S614R}, JAK1^{G1097V} et JAK3^{V722I}. De plus, on retrouve également un réarrangement clonal des gènes du TCR chez ces patientes (3).

II.2.2.5. Traitements

De manière générale, les patientes atteintes de BIA-ALCL pourront se voir proposer, suite à une réunion de concertation pluridisciplinaire, un traitement chirurgical afin de retirer l'implant (capsulectomie totale) et les ganglions lymphatiques du même territoire de drainage ou bien des traitements de radiothérapie ou chimiothérapie (53) (56).

II.2.2.6. Évolution

Malgré quelques similitudes, le taux de survie des patients présentant un BIA-ALCL est supérieur à celui retrouvé dans les ALCL systémiques. De même, le pronostic des patients atteints de BIA-ALCL limités à la capsule péri-prothétique sera meilleur que celui des formes disséminées (56).

II.3. Lymphome nodulaire à cellules T *follicular helper* de type angio-immunoblastique

Suite à la publication de la cinquième édition de la classification des hémopathies lymphoïdes de l'OMS en 2022, le lymphome angio-immunoblastique T a changé de nom et s'intitule désormais lymphome nodulaire à cellules T *follicular helper* de type angio-immunoblastique (ou *nodal TFH cell lymphoma, angioimmunoblastic-type*, en anglais). Ce type de lymphome appartient à une entité unique de lymphomes systémiques comprenant trois sous-types, le lymphome de type angio-immunoblastique (AITL), le lymphome de type folliculaire et le lymphome non spécifié (2) (57).

II.3.1. Épidémiologie

L'AITL représente le second sous-type de lymphome T cutané le plus fréquemment rencontré (35% des cas en Europe contre environ 16% aux États-Unis) mais ne représente que 1 à 2% des lymphomes non Hodgkiniens. Il affecte principalement les sujets entre 50 et 60 ans sans prédisposition en termes de sexe ou d'ethnie (58).

II.3.2. Physiopathologie

Les cellules impliquées dans l'AITL sont des LT matures CD4⁺ provenant des cellules T *follicular helpers* situées dans le centre germinal des ganglions lymphatiques. Ainsi, ces cellules présentent initialement un rôle important dans la sélection des LB et dans la mise en place d'une réponse immunitaire adaptée à l'antigène impliqué (58).

La physiopathologie de cette lymphopathie n'est pas complètement connue. Cependant, un certain nombre d'études mettent en évidence un possible lien entre une infection virale à EBV et le développement d'AITL (57) (58).

II.3.3. Clinique

Les patients atteints d'AITL présentent généralement des adénopathies, des hépatosplénomégalies, une anémie, une hypergammaglobulinémie ainsi que de possibles signes cutanés avec ou sans prurit associé. Des symptômes dit B peuvent également être fréquemment retrouvés chez ces patients. Une grande variété de troubles immunologiques peut également être retrouvée tel que des anémies hémolytiques auto-immunes, des polyarthrites rhumatoïdes, des thyroïdites auto-immunes ou des vascularites (3) (57) (58).

II.3.4. Diagnostic

Le diagnostic d'AITL repose sur une combinaison de caractéristiques cliniques, histologiques et biologiques (58). Sur le plan biologique, une anémie ou pancytopénie associée à une hypergammaglobulinémie, la présence d'auto-anticorps circulants ainsi qu'une élévation de la concentration en lactate déshydrogénase font partie des anomalies biologiques retrouvées au diagnostic (3).

II.3.4.1. Cytologie

Dans les phases les plus précoces de la maladie, l'architecture du ganglion est relativement bien conservée malgré la présence d'une infiltration cellulaire entraînant une expansion du paracortex nodal. Cette infiltration se compose essentiellement de lymphocytes, d'éosinophiles, de macrophages, de plasmocytes, de blastes lymphoïdes, de cellules de morphologie proche des cellules de Reed-Sternberg ou bien encore, de veinules endothéliales abondantes (Figure 22).

A l'inverse, dans les cas les plus avancés, l'architecture normale du ganglion est presque complètement perdue (3). Les cellules tumorales sont généralement de petite à moyenne taille, pouvant présenter quelques atypies nucléaires et un cytoplasme clair. Habituellement, ces cellules constituent des petits amas de cellules, piégés par les réseaux de cellules dendritiques folliculaires à proximité des veinules à endothélium épais présent dans les ganglions lymphatiques (58). Ces cellules tumorales peuvent être retrouvées aussi bien dans la MO, que dans la rate, la peau ou encore les poumons lors de la dissémination extranodale de la pathologie. La dissémination médullaire de ces cellules peut avoir lieu très précocement, compliquant le pronostic de la maladie (3) (58).

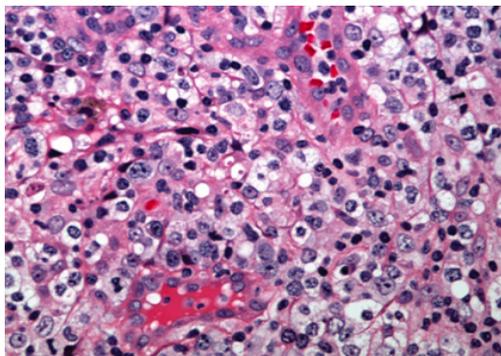


Figure 22 : Cellules d'AITL d'après *Naeim et al.* (2)

II.3.4.2. Immunophénotypage

L'immunophénotypage des cellules retrouvées dans les AITL est caractérisé par une expression du TCR $\alpha\beta$, de CD4 et de CD10 alors que l'expression des autres marqueurs pan-T (CD2, CD3 et CD5) est plus incertaine. Ces cellules présentent également une expression assez variable des marqueurs habituellement associés aux cellules TFH tels que le Bcl-6, PD-1, ICOS et CXCL13. L'immunophénotypage des cellules peut-être aussi bien effectué sur le sang périphérique, la MO que sur les ganglions lymphatiques (3) (58).

Au vu de la présentation clinique, les cellules d'AITL pourront également être étudiées en immunohistochimie à partir des coupes ganglionnaires réalisées en anatomopathologie, permettant de mettre en évidence, de même que dans les autres compartiments, des cellules pouvant exprimer au moins deux ou trois marqueurs relatifs aux cellules TFH. L'expression de CD21, CD23 et CD35 peut également être évaluée afin de visualiser la présence des cellules dendritiques folliculaires au niveau nodulaire. Enfin, le marquage de l'EBV par hybridation *in situ* sera dans la majorité des cas positif (3) (58).

II.3.4.3. Cytogénétique et biologie moléculaire

Classiquement, les patients atteints d'AITL présentent un réarrangement clonal du TCR dans 75% des cas. D'autres mutations peuvent être retrouvées tels que des mutations de TET2, DNMT3A et IDH2^{R172} mais elles ne sont pas spécifiques de la pathologie. La mutation de RHOA^{G17V} est quant à elle, très fréquemment rencontrée contribuant de manière secondaire à la différenciation des cellules TFH (3) (58).

Les aberrations chromosomiques clonales sont très fréquentes. Parmi les plus communes, on retrouvera des trisomies 3, 5 et 21, des gains 11q13, 19, 22q, des réarrangements du 1p, 3p, 14q ou des pertes 6q (3) (58).

II.3.5. Traitements

La prise en charge des AITL comprend en première ligne l'utilisation de chimiothérapie selon le protocole CHOP, à laquelle peuvent être ajouté d'autres molécules telles que l'étoposide (inhibiteur des topoisomérases I et II), l'alemtuzumab, le brentuximab védotine (anticorps monoclonal anti-CD30 associé à un antimétabolite) ou encore le bortézomib (inhibiteur du protéasome). Enfin, il est également possible de proposer à ces patients une greffe de CSH. Néanmoins, ce type de traitement est réservé aux sujets jeunes avec des formes réfractaires (59).

II.3.6. Évolution

L'AITL est un lymphome de pronostic assez péjoratif dont le taux de survie n'a pas évolué aux cours des dernières années. Plusieurs index et/ou scores pronostiques sont actuellement à l'étude afin de permettre une meilleure évaluation du risque de la maladie (59).

II.4. Lymphomes périphériques à cellules T, sans autres précisions

II.4.1. Épidémiologie

Les lymphomes périphériques à cellules T, sans autres précisions (PTCL-NOS) représentent plus de 25 à 35% des lymphomes périphériques à cellules T constituant le sous-type le plus commun. Par ailleurs, ils constituent une sous-classe distincte de lymphomes regroupant un groupe hétérogène de pathologies.

Habituellement, les patients atteints de ce type de lymphome sont majoritairement des hommes d'une soixantaine d'années. L'Europe et l'Amérique du Nord semblent touchés de manière équivalente alors que l'Asie présente une prévalence légèrement plus faible (60) (61).

II.4.2. Physiopathologie

Les PTCL-NOS sont un groupe hétérogène de pathologies ne pouvant être classées dans les autres catégories de lymphomes. La détermination de leur physiopathologie précise reste à investiguer (3).

II.4.3. Clinique

Au diagnostic, les patients atteints de PTCL-NOS sont majoritairement à un stade avancé de la maladie. Des symptômes B, nodaux et extranodaux (MO, foie, rate, peau) sont très souvent retrouvés (3) (61).

II.4.4. Diagnostic

Le diagnostic de PTCL-NOS est principalement un diagnostic d'exclusion des autres sous-types de PTCL. Ces patients peuvent présenter une anémie avec ou sans hémolyse, une thrombocytopénie, une hyperéosinophilie, une hypercalcémie, une hyper- ou une hypogammaglobulinémie ainsi qu'une élévation de la β 2-microglobuline, de la CRP et/ou de la LDH. De plus, des réactivations du CMV ou de l'EBV peuvent également être objectivées (3) (61).

II.4.4.1. Cytologie

Chez les patients atteints de PTCL-NOS, l'architecture ganglionnaire n'est généralement pas conservée du fait de l'infiltration des cellules néoplasiques. Ces cellules présentent des caractéristiques cytologiques hétérogènes (Figure 23).

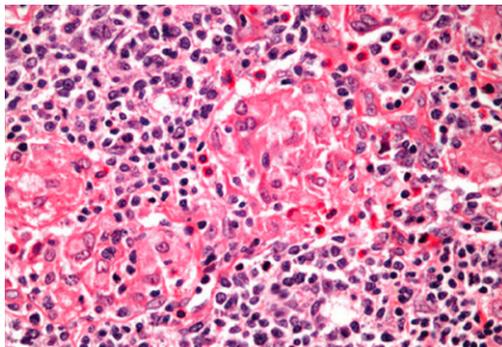


Figure 23 : Cellules de PTCL-NOS d'après *Naeim et al.* (2)

Cependant, trois types de variants morphologiques peuvent être isolés (3) (61) :

- La variante lymphoépithélioïde caractérisée par la présence de nombreux petits lymphocytes néoplasiques associés à des lymphocytes de taille plus importante, des histiocytes ainsi que des cellules inflammatoires.
- La variante folliculaire caractérisée par des cellules lymphoïdes claires constituant des agrégats.
- La variante de la zone T caractérisée par la présence de lymphocytes de petite à moyenne taille sans atypies particulières.

En dehors des ganglions lymphatiques, les lymphocytes néoplasiques peuvent également envahir la MO, la rate ou encore la peau et y être mis en évidence grâce aux examens appropriés (3) (61).

II.4.4.2. Immunophénotypage

L'immunophénotypage des cellules retrouvées dans les PTCL-NOS est celui d'une cellule présentant un marquage pan-T aberrant, avec une perte variable du CD5 et/ou du CD7 et une expression du TCR $\alpha\beta$, une expression très variable de CD4 et de CD8 ainsi qu'une possible expression de certains marqueurs tels que le CD56, CD30, CD15, CD20 ou CD79a dans de plus rares cas. Pour finir, les cellules de PTCL-NOS sont des cellules n'exprimant pas les marqueurs de TFH, contrairement aux AITL (3) (61).

II.4.4.3. Cytogénétique et biologie moléculaire

Classiquement les patients atteints de PTCL-NOS présentent un réarrangement des gènes du TCR associé à des aberrations chromosomiques principalement localisées sur les chromosomes 1, 2, 4, 6, 11, 14 et 17. D'autres mutations peuvent également être retrouvées telles que la translocation t(5;9)(q33;q22) entraînant la création d'une protéine de fusion (3).

II.4.5. Traitements

La prise en charge des PTCL-NOS comprend en première ligne, l'utilisation de chimiothérapie selon le protocole CHOP permettant d'obtenir un taux de réponse globale acceptable mais associé à un taux de rechute élevé. D'autres thérapeutiques sont en cours d'étude, notamment avec des associations d'étoposide. La greffe de CSH pourrait également être envisagée pour compléter un protocole de chimiothérapie. Cependant, aucune étude randomisée n'a encore permis de démontrer une efficacité de cette association. Pour finir, de nouvelles molécules sont à l'étude pour améliorer la prise en charge des PTCL-NOS (60) (61).

II.4.6. Évolution

Les PTCL-NOS sont des hémopathies agressives souvent chimiorésistantes pouvant être classées grâce à divers scores pronostiques (60) (61).

II.5. Syndrome hyperéosinophilique lymphoïde

Les syndromes hyperéosinophiliques (SHE) constituent un groupe hétérogène composé de diverses entités pouvant avoir une origine clonale, réactionnelle ou idiopathique (62). Seuls les SHE lymphoïdes, appartenant aux formes réactionnels seront décrits dans ce manuscrit.

II.5.1.1. Épidémiologie

Les SHE lymphoïdes sont des pathologies rares dont l'âge médian au diagnostic est d'environ 44 ans sans prédominance liée au sexe (63).

II.5.1.2. Physiopathologie

La physiopathologie de ce syndrome lymphoprolifératif T clonal indolent périphérique n'est pas encore complètement élucidé. Cependant, il semblerait que cela soit l'émergence du clone T qui conduise à l'expansion des éosinophiles, et ce par le biais d'une production accrue de facteurs de croissance spécifiques tels que l'IL-5 (64).

II.5.1.3. Clinique

Les symptômes les plus fréquemment retrouvés dans les SHE lymphoïdes correspondent à des atteintes cutanées à type d'eczéma, urticaire, prurit, rash, érythrodermie ou encore d'angioœdème facial. Peuvent également être fréquemment retrouvées, des atteintes ganglionnaires (adénopathies) ou articulaires et plus rarement digestives, pulmonaires, neurologiques ou cardiaques (64).

II.5.1.4. Diagnostic

Le diagnostic de SHE repose sur la mise en évidence d'une hyperéosinophilie persistante (éosinophiles > 1,5 G/L à deux reprises à un mois d'intervalle) et/ou une éosinophilie tissulaire associée à une atteinte ou une dysfonction d'organe attribuable à l'excès et à la toxicité des éosinophiles (62) (65). Une caractérisation étiologique de ce SHE sera ensuite indispensable afin de mettre en place un traitement le plus rapidement possible (62).

L'origine lymphoïde d'un SHE sera à envisager devant tout SHE inexplicé et nécessitera la détection d'une population lymphocytaire T clonale dans la circulation sanguine. Des examens complémentaires d'imagerie pourront également être demandés afin de déterminer la présence de polyadénopathies. De même, des dosages sériques des IgE totales généralement augmentées ainsi que des recherches de cryoglobulines faiblement positives pourront faire partie du bilan au diagnostic (62).

Les principaux diagnostics différentiels de ces SHE lymphoïdes sont les lymphomes T cutanées ainsi que l'AITL. Cependant, à l'inverse du SS, l'infiltrat lymphocytaire ne sera pas épidermique mais dermique. La présence de signes généraux et tumoraux ainsi que la présence d'une auto-immunité biologique et l'expression de certains marqueurs caractéristiques tels que le CD10 et/ou CXCL13 et PD-1 seront plutôt en faveur d'un AITL que d'un SHE lymphoïde (62).

II.5.1.4.1. Immunophénotypage

L'immunophénotypage des cellules retrouvées dans les SHE lymphoïdes correspond à celui d'une population lymphocytaire circulante aberrante généralement CD3⁺CD4⁺ (62) (64). Néanmoins, des phénotypes CD3⁺CD4⁺CD7⁻ ou CD3⁺CD4⁻CD8⁻TCRαβ⁺ peuvent également être retrouvés dans ces pathologies (62).

II.5.1.4.2. Cytogénétique et biologie moléculaire

Classiquement, les patients atteints de SHE lymphoïde présenteront un réarrangement des gènes du TCR permettant de mettre en évidence le caractère clonal de la pathologie (62) (64).

II.5.1.5. Traitements

La prise en charge des SHE est fonction de son origine, sa sévérité, son évolution et sa réponse au traitement mais aussi des critères propres au patient. Concernant le SHE lymphoïde, sa prise en charge est résumée dans la Figure 24 (62).

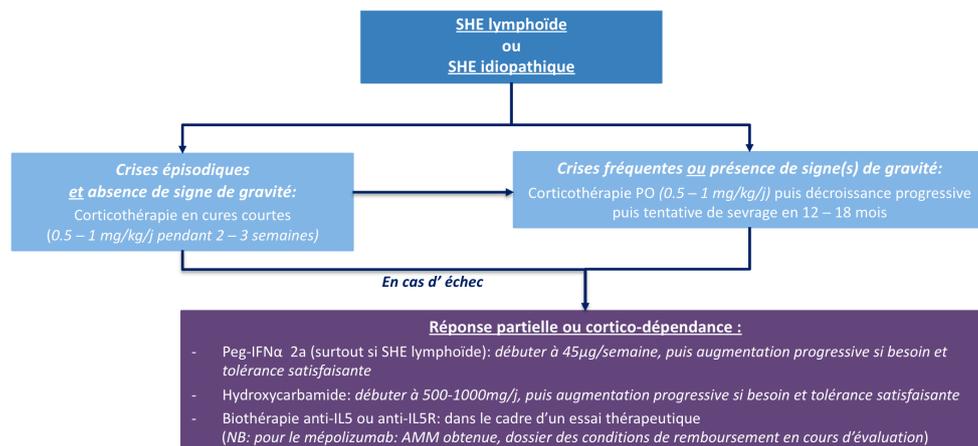


Figure 24 : Prise en charge du SHE lymphoïde d'après le PNDIS 2022 (62)

II.5.1.6. Évolution

Les données de la littérature semblent évoquer une transformation possible des SHE lymphoïdes en SS ou en AITL (20%) (66).

II.6. Lymphomes extra-nodaux

II.6.1. Proliférations lymphoïdes et lymphomes intestinaux à cellules T et NK

Les proliférations lymphoïdes et lymphomes intestinaux à cellules T et NK sont des pathologies rares. Cependant, le tractus gastro-intestinal est le site majeur de développement des lymphomes extra-nodaux puisqu'il rassemble à lui seul 30 à 40% des cas de ce type de pathologie (67).

II.6.1.1. Lymphome T associé à une entéropathie

Les lymphomes T associés à une entéropathie (EATL) sont des lymphomes intestinaux rares (5% des lymphomes T périphériques) dérivant d'une cellule T intra-épithéliale (67). Ils sont retrouvés chez des patients atteints de maladie cœliaque contrairement aux lymphomes T intestinaux monomorphes épithéliotropes (MEITL) qui ne sont jamais associés à cette pathologie. Les EATL sont principalement retrouvés chez les sujets de plus de 60 ans originaires d'Europe du Nord sans prédominance majeure liée au sexe (3) (67).

Les patients présentent généralement des symptômes de malabsorption (diarrhées, pertes de poids, douleurs abdominales...) ainsi qu'une symptomatologie intestinale bruyante à type d'occlusion ou de perforation (3) (67).

L'aspect des cellules à la biopsie correspond à des cellules de moyenne à grande taille avec des nucléoles proéminents pouvant également mimer la morphologie des grandes cellules anaplasiques. Des cellules inflammatoires ainsi que des zones de nécrose seront également fréquemment retrouvées à proximité. Les cellules d'EATL expriment habituellement le CD3 et le CD30, elles peuvent présenter un profil aberrant concernant le CD2 et CD7, un profil variable sur le CD8 et n'expriment pas le CD4 (3) (67).

Le pronostic de cette pathologie agressive est généralement mauvais. La chirurgie est fréquemment requise au vu des complications à type de perforation ou d'occlusion. Malgré tous, le traitement est similaire aux autres PTCL à ceci près que l'ajout d'un anti-CD30, le brentuximab vedotin peut être ajouté en vue d'améliorer la réponse clinique au traitement (3).

II.6.1.2. Lymphome T intestinal monomorphe épithéliotrope

Les MEITL dérivent, comme les EATL, des lymphocytes intra-épithéliaux. Contrairement aux EATL, les MEITL sont principalement retrouvés en Amérique du Sud et en Asie où il existe une prédominance masculine. Ils peuvent se développer à tout âge avec tout de même une moyenne au diagnostic à 59 ans (3) (67).

Habituellement, cette pathologie présente des symptômes similaires aux EATL mais, peut également disséminer vers d'autres sites tels que le foie, les poumons ou le SNC (67).

La morphologie de ces cellules est celle d'une population monomorphe, de taille légèrement supérieure aux lymphocytes normaux pouvant apparaître sous la forme de lésions multiples au niveau de la sous-muqueuse et de la musculature. Ces cellules expriment généralement CD3, CD8 et TCR $\gamma\delta$ mais n'expriment pas CD4, CD5 et CD30 (3).

Le pronostic des MEATL est généralement très mauvais et sa prise en charge est similaire aux autres PTCL (67).

II.6.2. Lymphome T/NK extra-ganglionnaire

Les lymphomes T/NK extra-ganglionnaires (ENKTCL) anciennement appelés lymphomes T/NK extra-ganglionnaires de type nasal dans la quatrième édition de la classification de l'OMS sont des formes agressives de lymphomes associées à l'EBV. Ils sont prédominants dans les régions d'Asie et d'Amérique du Sud et touchent préférentiellement des hommes entre 46 et 60 ans (68).

Les ENKTCL peuvent être retrouvés sous deux formes. Une forme localisée (2/3 au diagnostic) de bon pronostic ou disséminée majoritairement au cours des récurrences (10-20%), de mauvais pronostic. Les formes disséminées sont fréquemment associées aux syndromes d'activation macrophagique (68).

De manière générale, les ENKTCL se présentent sous la forme d'obstructions nasales accompagnées ou non d'épistaxis, d'œdèmes, d'ulcérations ou encore de lésions nécrotiques au niveau des fosses nasales et de la face (68).

La morphologie de ces cellules est variable. Cependant, ces zones de prolifération lymphocytaire atypiques sont majoritairement associées à des zones de nécrose. Les cellules de ENKTCL expriment CD3, CD5, CD8 ainsi que des marqueurs de cellules NK tel que le CD56, étant donné que la majorité des cas de ENKTCL seront liés à ce type cellulaire, mais exprimeront rarement CD4, CD8, CD16 et CD57 (68).

Initialement les formes localisées étaient uniquement traitées grâce à la radiothérapie. Cependant, face à un fort taux de récurrence, des cycles de chimiothérapie ont été ajoutés à cette prise en charge afin de diminuer ce risque. Ainsi, à l'heure actuelle, les formes localisées sont prises en charge selon le schéma MGAD comportant trois étapes. La première consiste à administrer une association gemcitabine, méthotrexate, dexaméthasone et asparaginase puis, une irradiation en sandwich à champs larges (de 50 Gy) pour finir avec une nouvelle administration de gemcitabine, méthotrexate, dexaméthasone et asparaginase. En ce qui concerne les formes disséminées, celles-ci pourront recevoir un schéma MOGAD associant trois ou quatre cycles de gemcitabine, oxaliplatine, méthotrexate, dexaméthasone et asparaginase à une intensification (68).

III. Cytométrie en flux

III.1. Principes généraux

La CMF est une technique permettant le tri et l'analyse de cellules individuelles en suspension dans un flux liquidien (tel que le sang, la MO, le LCR et autres liquides de ponction) mais également de matrices solides après traitement (organes solides, par exemple) (69). Historiquement, le premier cytomètre en flux permettait uniquement la détection de la taille des cellules (70). Cependant, les avancées majeures de ces trente dernières années ont permis de développer cette technologie dans de nombreuses applications notamment en immunologie, en hématologie, en oncologie, en bactériologie et en virologie (71).

Dans le champ de l'hématologie, le principe de la CMF consiste à faire passer des centaines de cellules par seconde devant un ou plusieurs lasers afin d'étudier les caractéristiques physico-biologiques de l'ensemble des populations cellulaires présentes dans l'échantillon (71). Ainsi, la CMF permet de réaliser un immunphénotypage des cellules par obtention d'informations telles que la taille, la structure mais aussi de déterminer l'expression précise d'antigènes membranaires (extracellulaires), cytoplasmiques ou nucléaires (intracellulaires) après marquage cellulaire à l'aide d'anticorps monoclonaux couplés à des fluorochromes (72).

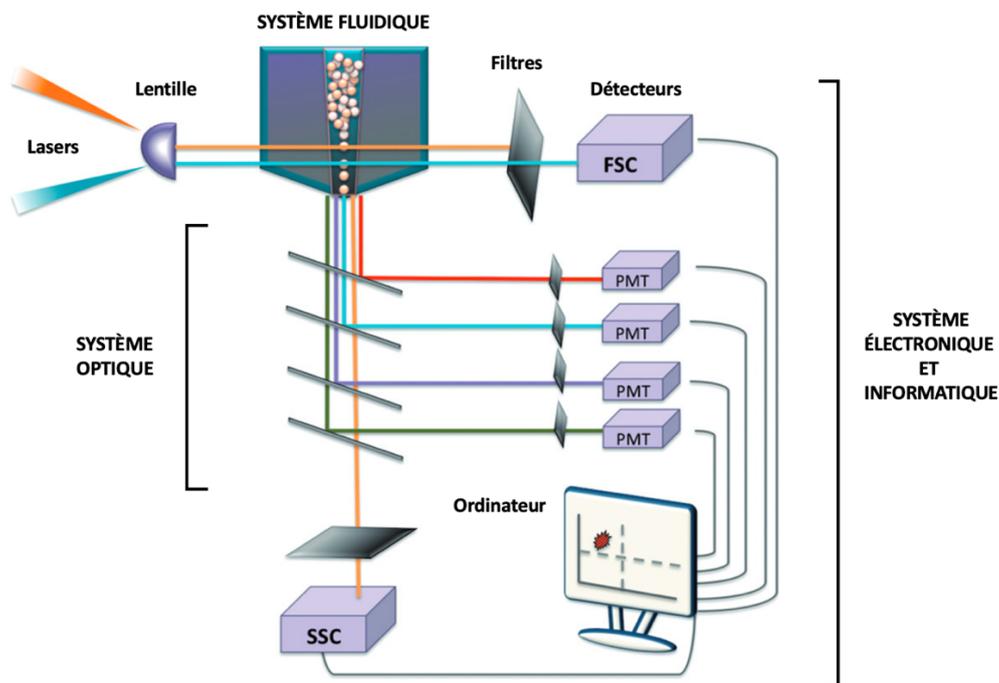


Figure 25 : Principe général de la CMF d'après A. Adan et al. (72)
FSC : forward scatter ; SSC : side scatters ; PMT : photomultiplier tubes

Schématiquement, la CMF repose sur quatre éléments que sont le système fluide, le système optique, le système électronique et le système informatique (Figure 25).

III.1.1. Système fluide

Le système fluide permet de transporter les cellules présentes dans le prélèvement jusqu'au système d'analyse. Pour cela, le prélèvement est injecté à l'intérieur du flux du liquide de gaine correspondant généralement à une solution saline de phosphate tamponnée (PBS).

L'échantillon va ensuite circuler au travers d'un tube de diamètre plus fin dans lequel la pression de l'échantillon est toujours supérieure à la pression du fluide de la gaine, permettant ainsi aux cellules de s'aligner en une seule file à travers le faisceau laser. Ceci prend le nom de focalisation hydrodynamique (Figure 26).

Le taux d'injection des cellules dans le faisceau laser peut être ajusté par l'utilisateur en fonction du type d'analyse. En effet, un débit élevé sera plutôt utilisé pour l'immunophénotypage des cellules humaines alors qu'un débit faible sera principalement utilisé pour l'analyse des composants de l'ADN, nécessitant une résolution plus importante (69) (72).

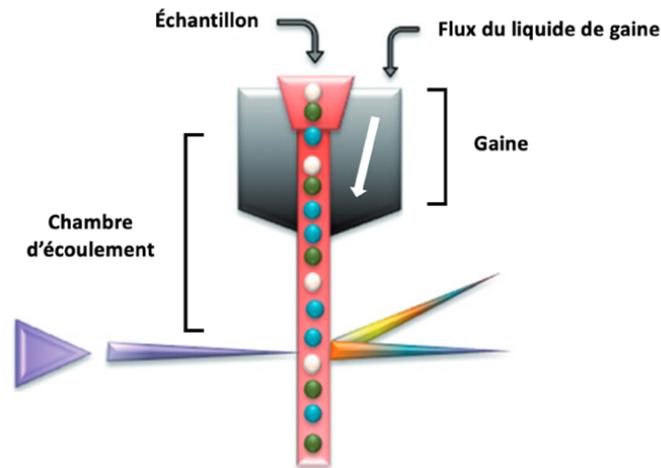


Figure 26 : Principe de focalisation hydrodynamique d'après A. Adan et al. (72)

III.1.2. Système optique

Le système optique est composé de lasers, de filtres et de miroirs (constituant le banc optique) permettant de générer, amplifier et détecter un signal lumineux. Ainsi, les lasers interagissant avec les cellules focalisées permettent d'obtenir trois types d'informations :

- Taille des cellules (Figure 27) : diffusion de la lumière collectée dans l'axe du faisceau. On parle de diffusion aux petits angles ou *forward scatter* (FSC) en anglais.
- Granulosité des cellules (Figure 27) : diffusion de la lumière collectée perpendiculairement au faisceau laser. On parle de diffusion aux grands angles ou *side scatter* (SSC) en anglais.

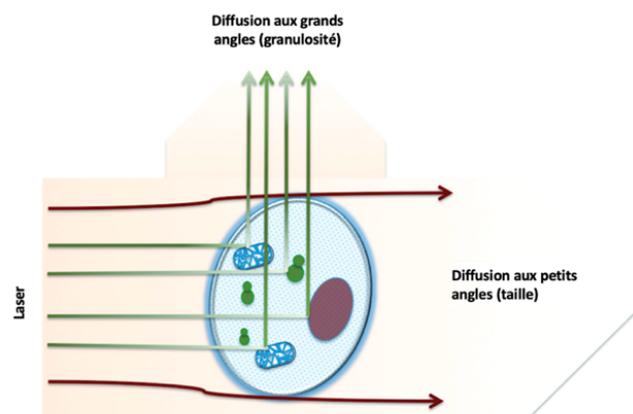


Figure 27 : Principe d'obtention de la taille et de la granulosité d'après A. Adan et al. (72)

- Un troisième paramètre est obtenu suite à l'interaction de la lumière émise avec des anticorps couplés à des fluorochromes spécifiques des marqueurs présents à la surface des cellules. Ces marqueurs que l'on appelle des *clusters* de différenciation (CD) permettront de préciser l'identité des cellules marquées. La source de lumière, suite à son interaction avec le fluorochrome, va passer de son état stable initial à un état excité, puis retrouver un état stable en émettant un photon à une longueur d'onde bien spécifique (Figure 28) (70) (72).

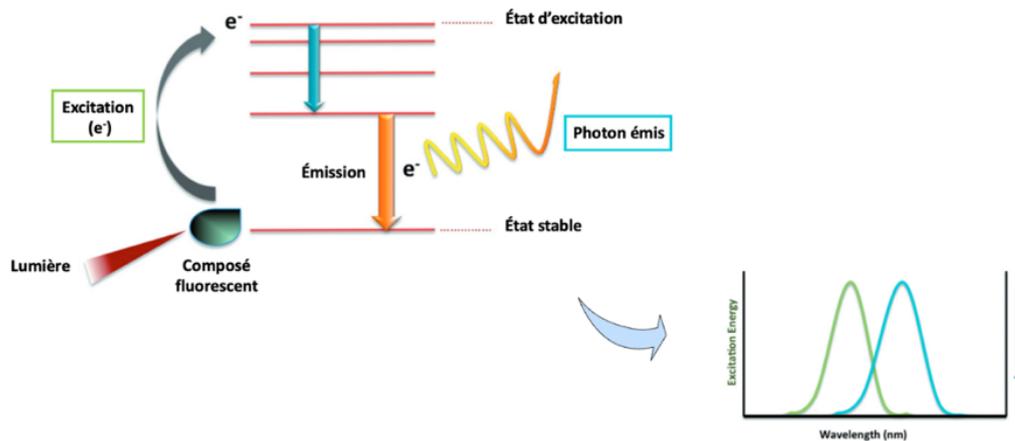


Figure 28 : Principe de fluorescence d'après A. Adan *et al.* (72)

En pratique, un ensemble d'anticorps (appelé panel) sera utilisé dont la composition sera déterminée par l'équipe de cytométrie en flux, en fonction des populations cellulaires d'intérêt à étudier (par exemple, le typage des blastes dans le cadre d'une suspicion de leucémie aigüe, l'étude des sous-populations lymphocytaires afin de suspecter la présence d'un clone lymphoïde...).

III.1.2.1. Fluorochromes

Les principales molécules fluorescentes possèdent des noyaux aromatiques. Ces fluorochromes ne sont excitables qu'à certaines longueurs d'ondes permettant ainsi d'obtenir des spectres d'absorption et d'émission propres à chaque molécule (72). Historiquement, les fluorochromes les plus utilisés sont l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC), la phycoérythrine (PE) et l'allophycocyanine (APC). Cependant, afin d'augmenter la quantité d'anticorps utilisables et donc le nombre de marqueurs étudiés, des combinaisons de plusieurs fluorochromes ont été développées. Ces fluorochromes que l'on appelle « en tandem » produisent de la fluorescence grâce à la transmission d'énergie du premier fluorochrome au deuxième, lorsque le premier a atteint son absorbance maximale. En réponse, le deuxième fluorochrome est activé et produit une fluorescence. Par exemple, l'association de la PE ou de l'APC avec des cyanines ont permis la création de la PE-Cy5 et de l'APC-Cy7. Ce processus appelé transfert d'énergie par résonance de fluorescence (FRET) permet d'augmenter le nombre de couleur analysées à partir d'une seule longueur d'onde émise par le laser (70) (72).

Il existe sur le marché tout un catalogue d'anticorps couplés à des fluorochromes (Figure 29). Ainsi, un même anticorps peut être couplé à plusieurs fluorochromes différents. La sélection de ces fluorochromes est fonction des lasers utilisés mais aussi des autres fluorochromes présents dans le panel d'anticorps conçu afin d'éviter tout risque d'interférence. Ce point sera abordé un peu plus tard dans le manuscrit (72).

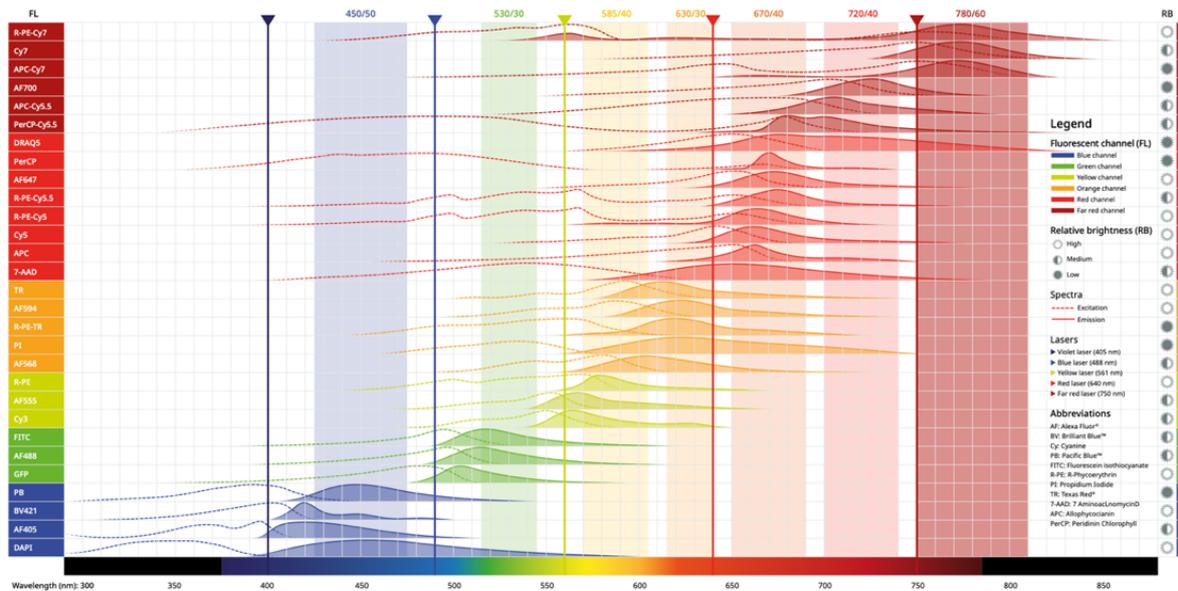


Figure 29 : Principaux fluorochromes en CMF d'après abcam (73)

III.1.2.2. Compensations

Les fluorochromes possèdent de larges spectres d'émission pouvant se chevaucher lorsque ceux-ci se retrouvent associés dans les panels d'anticorps utilisés en routine. Ce phénomène génère des interférences dans d'autres canaux spécifiques d'autres fluorochromes (Figure 30).

Pour pallier à cela, des techniques de compensations ont été développées afin de soustraire ces interférences. Ainsi, pour connaître le pourcentage de compensation à appliquer sur un fluorochrome (par exemple, B), il sera nécessaire de tester de manière indépendante le fluorochrome à l'origine de cette interférence (par exemple, A) afin de déterminer le pourcentage de fluorescence détectée par le canal voisin (72).

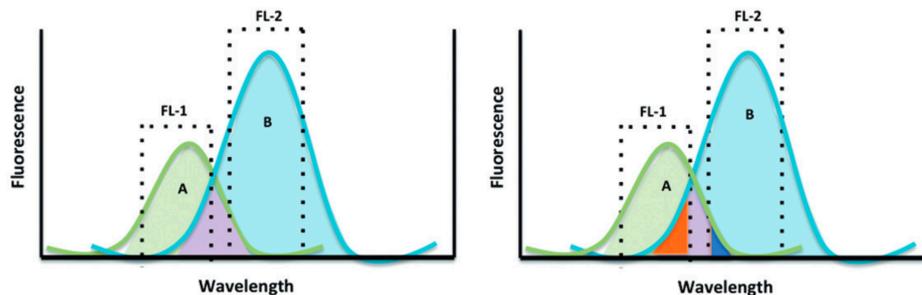


Figure 30 : Principe de la compensation d'après Adan et al. (72)
 Fluorochrome A est mesuré dans le canal FL-1 tandis que B est dans le canal FL-2
 La partie orange indique la proportion de B qui chevauche le canal FL-1
 La partie bleue indique la proportion de A qui entre dans le canal FL-2

Ainsi, afin de voir les niveaux d'interférences entre chaque fluorochromes, il existe des tables, appelées *bubble matrix* (Figure 31), fréquemment utilisés dans les laboratoires en routine. Ceci permettant à l'opérateur d'ajuster ces compensations sans réaliser des expérimentations supplémentaires.

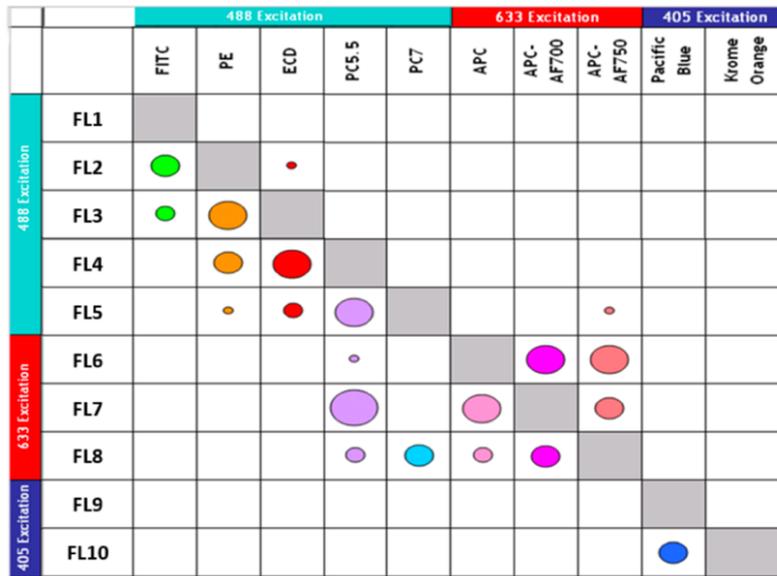


Figure 31 : Exemple de *bubble matrix* d'après *Janmohamed-Anastasakis et al.* (74)

III.1.2.3. Banc optique

Le banc optique, composant en partie le système optique, facilite la séparation des différentes longueurs d'ondes émises et permet de les acheminer jusqu'aux détecteurs du cytomètre. Suite à l'excitation des différents fluorochromes, la lumière émise sera collectée dans la lentille de collection puis envoyée sur un système de miroirs sélectifs (appelés miroirs dichroïques) et de filtres optiques permettant de séparer et concentrer une longueur d'onde précise de cette lumière vers un détecteur spécifique du cytomètre. Ainsi, la lumière emprunte les différents canaux dédiés à chaque fluorochrome utilisé dans le panel. Il existe différents types de filtres optiques (Figure 32) tels que des filtres passe-haut laissant passer uniquement la lumière supérieure ou égale à une certaine longueur d'onde, des filtres passe-bas ne laissant passer que la lumière inférieure ou égale à une longueur d'onde donnée et des filtres passe-bande qui laissent passer la lumière comprise entre deux longueurs d'ondes (70) (72).

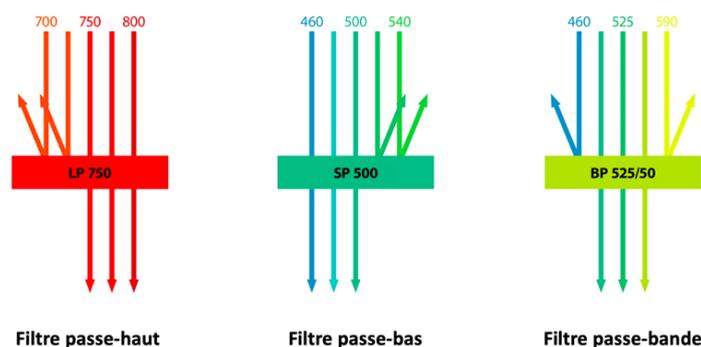


Figure 32 : Différents types de filtres optiques d'après *Miltenyi Biotec* (75)

III.1.3. Système électronique

Le signal lumineux est converti en signal électrique. Pour cela, le signal lumineux va passer à travers un détecteur de type photodiode ou photomultiplicateur afin de générer un signal électrique proportionnel au nombre d'électrons générés dans le détecteur par le signal lumineux.

Toute amplification sera donc à l'origine d'un signal pouvant être de faible intensité si celui-ci provient de débris présent dans l'échantillon. Ainsi, des seuils devront être définis au préalable afin de ne convertir que le signal électrique d'intérêt en un signal digital sous la forme de valeurs numériques aussi appelées canaux, allant de 0 à 1 023, traités ensuite informatiquement. (70) (72).

III.1.4. Système informatique

Une fois les données brutes obtenues, celles-ci seront retraitées grâce à des logiciels spécifiques afin d'être analysées pour répondre à la problématique de départ. Ainsi, les cellules pourront être classées simplement en fonction de leur morphologie, de leur taille et de leur granulométrie (Figure 33) mais également de manière plus complexe grâce l'analyse des marqueurs qu'elles portent à leur surface (70).

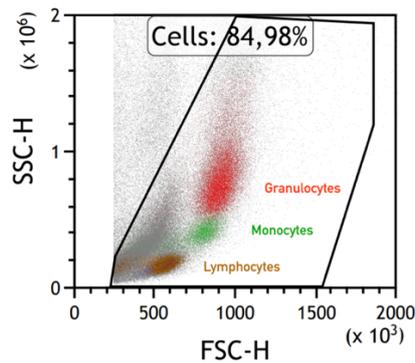


Figure 33 : Représentation FS/SS

Il existe plusieurs façons de retraiter les données en CMF. Les histogrammes monoparamétriques permettent d'étudier l'intensité de fluorescence en abscisse et le nombre de cellules (ou nombre d'évènements) en ordonnée (Figure 34A). Les histogrammes biparamétriques (appelés également nuages de points ou *dot plot* en anglais) permettent de visualiser l'expression de deux paramètres sur une population donnée (Figure 34B).

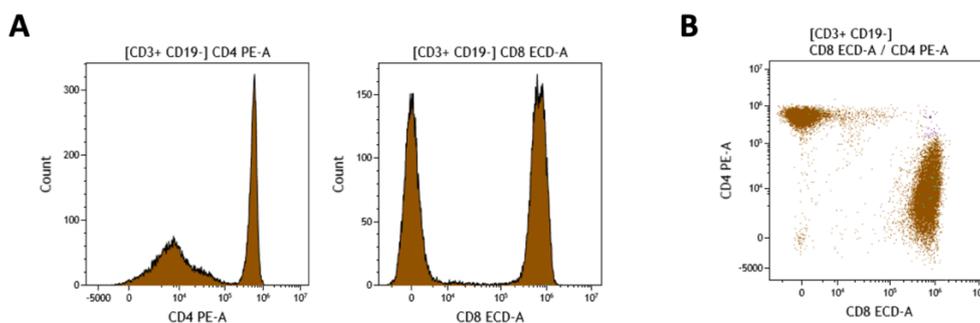


Figure 34 : Représentations graphiques des données de CMF

- A** : histogrammes biparamétriques CD4⁺ et CD8⁺ parmi les cellules CD3⁺/CD19⁻
- B** : nuage de points de type *dot plot* représentant l'expression de CD4 et CD8 parmi les cellules CD3⁺/CD19⁻

En hématologie, le principe de l'analyse de données en CMF est de sélectionner une population cellulaire afin d'étudier l'expression de marqueurs permettant de déterminer la répartition des sous-populations cellulaires d'intérêt, mais également de rechercher la présence d'une population anormale.

Pour y parvenir, des méthodes de *gating* seront utilisées (76). Par exemple, afin d'étudier principalement les LT, plusieurs étapes de tri seront nécessaires pour éliminer les autres populations cellulaires et analyser uniquement cette population d'intérêt. Ainsi, une première étape de sélection des cellules viables puis des singulets sera effectuée. Les marquages successifs au CD45 et CD3 permettront ensuite d'affiner la sélection aux cellules exprimant les marqueurs correspondant, c'est-à-dire aux LT, contrairement aux LB, qui eux expriment le CD19 (Figure 35).

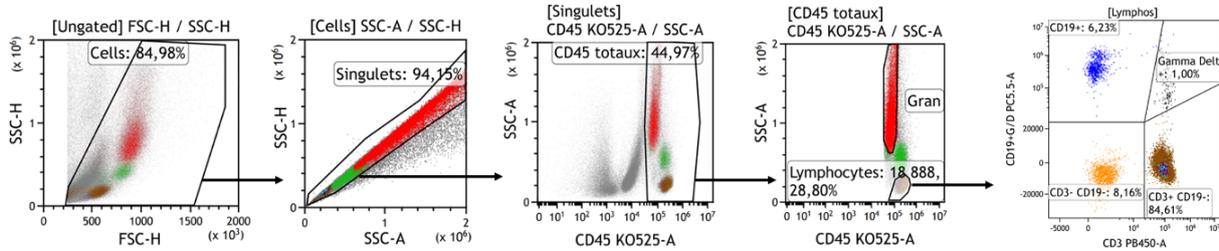


Figure 35 : Principe du *gating*

En rouge sont représentés les granulocytes, en vert les monocytes, en marron les LT, les LB en bleu, les lymphocytes CD3⁺CD19⁻ en orange et les LT $\gamma\delta$ en noir

III.2. La cytométrie en flux au service des lymphoproliférations T

Comme abordé dans le chapitre précédent, les syndromes lymphoprolifératifs T constituent un groupe hétérogène d'hémopathies agressives au pronostic généralement péjoratif, de par leur stade de maturation cellulaire (LT ou cellule NK), leur présentation clinique (cutanée, ganglionnaire, leucémique ou extraganglionnaire non cutanée) ou encore leurs facteurs étiologiques (2) (1). Ainsi, le diagnostic de ces pathologies repose donc à la fois sur des critères cliniques, d'imagerie (le plus souvent par tomographie par émission de positons), histologiques et biologiques. Cependant, la confirmation du diagnostic dépend principalement de la mise en évidence de la nature néoplasique de la prolifération lymphocytaire T.

Le caractère clonal de cette prolifération pourra être objectivé grâce à une combinaison de plusieurs techniques que sont la cytologie, l'immunophénotypage, la BM ainsi que la cytogénétique (3). Actuellement, la méthode diagnostique de référence de mise en évidence de la monoclonalité de la lymphopathie T repose sur l'étude des réarrangements des gènes codant pour le TCR présent à la surface des LT, par des techniques de BM. Cette dernière peut également être complétée par des techniques de cytogénétique permettant de déterminer les anomalies chromosomiques responsables de ces pathologies. Cependant, ces outils diagnostiques correspondent à des analyses longues et coûteuses. Pour finir, l'analyse morphologique des cellules au microscope par un biologiste même expérimenté, n'est pas toujours suffisante à elle seule pour relier les caractéristiques d'une catégorie précise de syndrome lymphoprolifératif T (3). Cela nécessite par conséquent la réalisation d'examen biologiques complémentaires.

La place de la cytométrie en flux au diagnostic mais également au suivi de lymphopathies T est donc essentielle, offrant une analyse simultanée d'un grand nombre de marqueurs connus et parfois mêmes très spécifiques de certaines hémopathies (77). Les principales caractéristiques des pathologies les plus fréquentes retrouvées en CMF sont indiquées dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Principaux marqueurs exprimés en fonction des types de lymphopathies T

Marqueurs	Expression	T-PLL	T-LGLL	SS	ALK-ALCL	AITL	PTCL-NOS
CD2	LT et NK	+	+	+	+	±	+
sCD3	Marqueur pan-T : maturation T	+	+	+	+	dim	±
CD4	Classification des LT matures	+	±	+	Paradoxal	+	Paradoxal
CD5	Marqueur pan-T	+	-	+	+	±	±
CD7	LT et NK	+	±	dim	+	-	±
CD8	Classification des LT matures	±	+	-	Paradoxal	-	Paradoxal
CD10	LT et LB immatures					+	
CD16	NK, LT et PNN	-	+				
CD20	Marqueur pan-B						+ (parfois)
CD25	LT activés	-	-	+			
CD26	NK, LT immatures et activés			-			
CD30	LT et LB activés				+	±	±
CD56	NK	-	+				±
CD57	LT et NK		+				
CD79a	Marqueur pan-B						+ (parfois)
cTCL1	Oncogène	±					
TCRαβ	85% des LT matures	+	+	+	+	+	+
TCRγδ	15% des LT matures	-	±	-	-	-	-
TFH	Marqueur de TFH					+	-
ALK	Kinase du lymphome anaplasique				-		

sCD3 : CD3 de surface ; **LT** : lymphocytes T ; **LB** : lymphocytes B ; **NK** : cellules Natural Killer ; **PNN** : polynucléaires neutrophiles ; **TFH** : T follicular helper

Les marqueurs d'orientation vers les lymphomes T utilisés historiquement suite à la *Bethesda International Consensus Conference* de 2006 et ceux utilisés dans les principaux CHU de la région Nouvelle-Aquitaine ainsi qu'à Toulouse sont rassemblés dans le Tableau 11. Par la suite, des panels complémentaires peuvent venir affiner le diagnostic notamment dans le cadre des SS avec des panels spécifiques au SS (non décrits dans le Tableau 11). Diverses combinaisons de marqueurs ont été ainsi étudiés dans les différents laboratoires de diagnostic permettant de cribler le plus large éventail de lymphopathies T. Ainsi, un syndrome lymphoprolifératif T pourra être suspecté devant une expansion de la population lymphocytaire T surtout si celle-ci exprime de manière isolée le CD4 ou CD8 ou bien encore la coexpression ou l'absence d'expression du CD4 et du CD8. Cependant, ces caractéristiques sont aspécifiques et peuvent également être observés dans des situations réactionnelles. Ainsi, l'argument le plus en faveur d'une authentique lymphopathie T sera la détection d'une population anormale possédant une expression aberrante de certains marqueurs, et notamment des marqueurs pan-T (77).

Tableau 11 : Marqueurs T communément utilisés dans les panels T de CMF

Sources	Marqueurs utilisés dans les panels T de CMF	
Bethesda International Consensus Conference	Principaux	CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD45, CD56
	Secondaires	CD1a, cCD3, CD10, CD16, CD25, CD26, CD30, CD34, CD45RA, CD45RO, CD57, TCRαβ, TCRγδ, cTIA-1, isoforme de la chaîne Vβ du TCR, TdT
Limoges	Panel T *	CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD10, CD16, CD19/γδ, CD45, CD56
	TRBC1	CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD10, CD16/56, CD19/TCRγδ, CD45, TRBC1
Bordeaux	Panel O2	CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD19, CD45, CD56, CD57, TRBC1, HLADR
	Panel T	(CD2), CD3, CD4, (CD5), (CD7), CD8, CD10, CD25, CD45, TRBC1, TCRγδ, (HLADR)
Poitiers	SLPT orientation (début avril 2024)	CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD10, CD45, TCRαβ, TRBC1
Toulouse	Orientation lymphome T	CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD14, CD45, TCRγδ, TRBC1 + vérification clonalité Vβ et panels spécifiques

* Correspond à l'ancien panel T du CHU de Limoges (sans TRBC1)

En théorie, il serait possible d'étudier l'ensemble de ces marqueurs pour être le plus exhaustif possible et disposer de tous les éléments pour trancher d'un éventuel diagnostic de lymphopathie T. En pratique, la configuration technique des automates de CMF disponibles à l'heure actuelle sur le marché, de surcroît en laboratoire de routine, nécessiterait de monter plusieurs tubes par panel. Ceci augmenterait considérablement le temps technique mais aussi le coût de l'analyse.

En pratique, la plupart des panels T utilisent un, voire deux tubes au maximum, et nécessitant une réflexion fine des marqueurs les plus pertinents à sélectionner, comme résumé dans le Tableau 11. A l'heure actuelle, la détection d'une population tumorale se base sur l'expression de marqueurs aberrants, mais n'incluent pas la mise en évidence de « monotypies » comme c'est le cas pour les panels destinés aux lymphoproliférations B avec l'expression des chaînes légères κ et λ, rendant parfois difficile l'interprétation des résultats. Par conséquent, le développement de nouveaux marqueurs utilisables en CMF permettrait de simplifier grandement l'interprétation des immunophénotypes T au diagnostic.

Bien que le suivi de ces différentes entités repose sur l'évolution clinique favorable du patient, il implique également de suivre l'évolution du clone tumoral tout particulièrement chez les patients atteints de MF ou de SS (78). Enfin, le suivi peut également être réalisé par le biais des techniques d'imagerie et notamment la tomographie par émission de positons (79). Ainsi, l'utilisation de la CMF chez les patients lorsque cela est possible (présence d'un clone sanguin) faciliterait grandement le suivi du clone détecté au diagnostic.

IV. Mise en place du marqueur TRBC1 au laboratoire d'hématologie du CHU de Limoges

IV.1. Généralités

Comme mentionné dans le paragraphe précédent, le développement de nouveaux outils permettant de faciliter l'obtention d'une réponse fiable et rapide quant au caractère tumoral d'une population lymphocytaire T suspecte est un enjeu majeur dans le diagnostic et le suivi des syndromes lymphoprolifératifs T. Ainsi, de nombreuses équipes de recherche ce sont données pour objectif de trouver de nouveaux marqueurs permettant de distinguer le caractère tumoral du caractère réactionnel d'une lymphoprolifération T.

En 2017, des travaux publiés par *Maciocia et al.* utilisaient l'expression exclusive du domaine constant C1 ou C2 de la chaîne β du TCR (TRBC1 et TRBC2) pour cibler de manière spécifique les lymphocytes T tumoraux exprimant majoritairement l'un de ces domaines. Ceci étant permis par le grâce au développement de lymphocytes T génétiquement modifiés pour reconnaître exclusivement ces domaines par la technique des CAR-T cells (*chimeric antigen receptor-T cells*) (4).

Sur un modèle équivalent au déséquilibre des chaînes κ et λ dans les lymphopathies B, il a été démontré que l'expression de TRBC1 et TRBC2 était plus ou moins équilibrée en situation physiologique (35% TRBC1 et 65% TRBC2), alors que celle-ci serait déséquilibrée en situation pathologique, de par l'expansion d'un clone TRBC1 ou TRBC2 à l'initiation de la lymphoprolifération. En effet, l'expression de TRBC1 et TRBC2 étant exclusive (Figure 36) cette technique permet de cibler précisément les LT clonaux portant TRBC1 ou TRBC2 tout en épargnant les lymphocytes normaux. Ainsi, afin de pouvoir accéder à une telle technique d'immunothérapie, cette équipe a développé un nouvel anticorps monoclonal nommé JOV-1 capable de reconnaître spécifiquement l'expression de TRBC1 à la surface des LT (4).

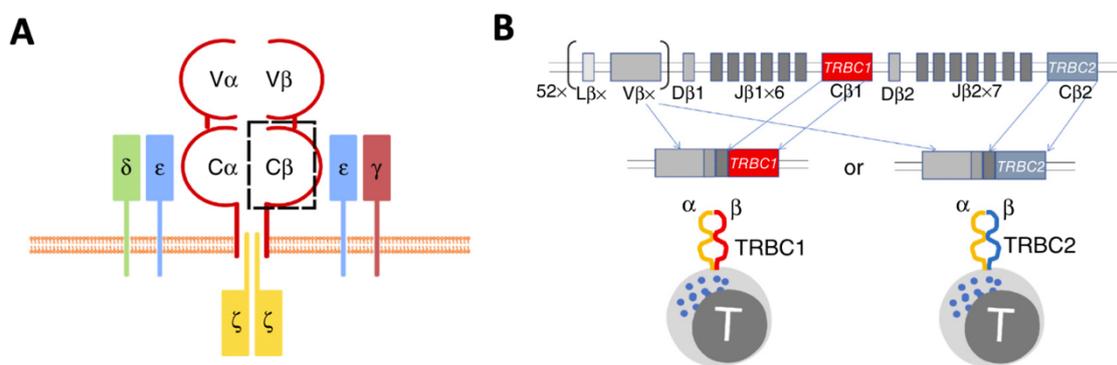


Figure 36 : Structure du TRBC1 et TRBC2 des lymphocytes T d'après *Maciocia et al.* (4)

A : structure du TCR (la région constante de la chaîne β est mise en pointillés)

B : processus de réarrangement des gènes pour le locus de la chaîne β

Par la suite, d'autres équipes ce sont intéressées à cet anticorps monoclonal anti-TRBC1, non pas pour traiter les patients mais pour diagnostiquer d'éventuels syndromes lymphoprolifératifs T. Plusieurs études ont alors vu le jour et ont permis de démontrer le caractère monotypique de TRBC1 dans les lymphoproliférations T clonales avec une sensibilité et une spécificité proche de la technique de référence qu'est la biologie moléculaire, tout en étant plus rapide et moins coûteuse (5-8).

En parallèle de ces observations, une équipe de la *Mayo Clinic* (Minnesota, USA) ayant étudié TRBC1 a ainsi pu déterminer des valeurs seuils pouvant être utilisées pour statuer sur le caractère tumoral d'une population lymphocytaire. Les valeurs de ces seuils ont été fixées comme devant être supérieures à 85% ou inférieures à 15% d'expression de TRBC1 dans le sang mais aussi dans la MO (6) permettant ainsi une analyse harmonisée entre les différents centres. Enfin, ces études ont également montré que le fait de combiner ce nouvel anticorps avec les panels déjà utilisés en routine permettait d'affiner le phénotype de la population anormale et ainsi, d'orienter la classification du syndrome lymphoprolifératif T suspecté (5-8).

Sur la base de ces travaux, la mise au point du nouveau panel T incluant ce marqueur a été lancée, et l'étude de son apport pour le laboratoire d'hématologie dans le diagnostic des lymphopathies T a également été réalisée.

IV.2. Matériel et méthode

IV.2.1. Recrutement des patients

Le recrutement des patients a été effectué sur la période de mars 2023 à janvier 2024, et a été scindé en deux périodes (Figure 37) :

- La première période, du 28 mars 2023 au 23 août 2023, correspondant à la cohorte 1 que l'on appellera « cohorte d'entraînement », qui a permis de tester et de mettre en place le nouvel anticorps anti-TRBC1 en routine.
- La deuxième période, du 24 août 2023 au 15 janvier 2024, correspondant à la cohorte 2 que l'on appellera « cohorte d'étude », permettant d'évaluer l'apport de ce nouveau panel dans l'activité de routine du laboratoire.

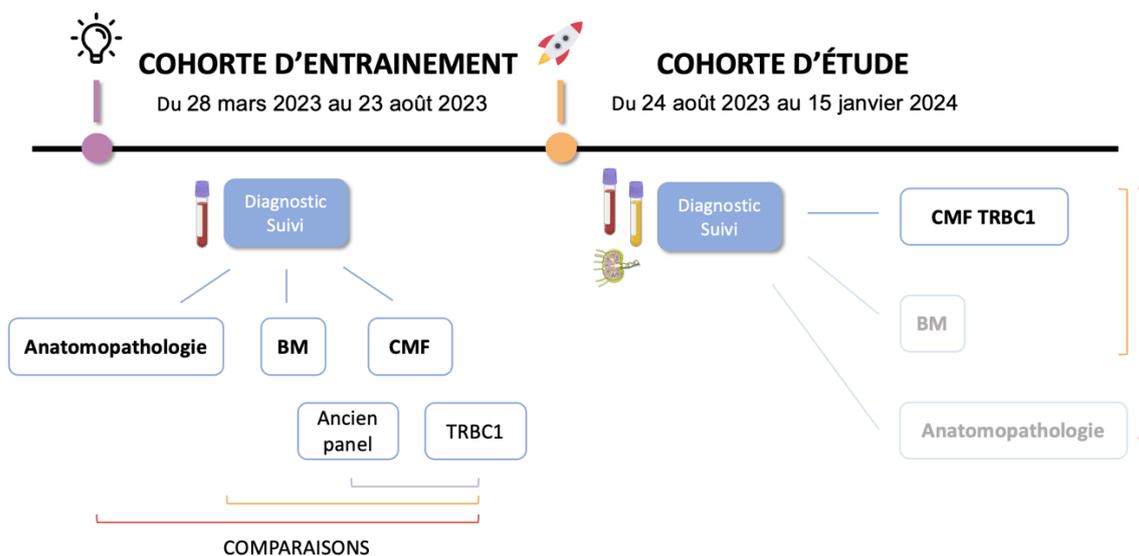


Figure 37 : Diagramme résumant l'étude

Les sujets de la cohorte d'entraînement ont permis de valider la mise en place du nouveau panel en routine. Pour cela, ont été inclus des patients reçus au CHU (consultation ou hospitalisation) pour une suspicion de syndrome lymphoprolifératif T ou le suivi d'un syndrome lymphoprolifératif déjà connu par ailleurs. Des patients sains (au nombre de 5) indemnes de syndrome lymphoprolifératif hospitalisés ou consultant au CHU de Limoges pour un autre motif ont également été inclus.

Pour l'ensemble des patients de cette cohorte, une étude de la clonalité T par BM ainsi qu'une étude de l'immunophénotypage des cellules selon l'ancien et le nouveau panel ont été analysés alors que seul certains patients ont bénéficié d'un examen anatomopathologique.

Les sujets de la cohorte d'étude ont quant à eux permis de tester le nouveau panel en condition réelle. Pour cela, les patients ayant bénéficié d'une prescription pour une exploration de LT en CMF ont été inclus.

IV.2.2. CMF panel TRBC1

Le panel d'étude incluant l'anticorps anti-TRBC1 est détaillé en Annexe 1 et est composé de 13 anticorps (Tableau 12). Pour plus de clarté, ce panel sera nommé « panel TRBC1 » dans la suite du manuscrit.

Tableau 12 : Anticorps utilisés dans le panel TRBC1

Marqueurs	Couleurs	Expression	Marque
CD2	APC	LT et NK	Beckman Coulter®
sCD3	PB	Marqueur pan-T : maturation T	Beckman Coulter®
CD4	PE	Classification des LT matures	Beckman Coulter®
CD5	APC A750	Marqueur pan-T	Beckman Coulter®
CD7	APC A700	LT et NK	Beckman Coulter®
CD8	ECD	Classification des LT matures	Beckman Coulter®
CD10	V605	LT et LB immatures	Beckman Coulter®
CD16	PE Cy7	NK, LT et PNN	Beckman Coulter®
CD19	PE Cy5,5	Marqueur pan-B	Beckman Coulter®
CD45	KO	Marqueur pan-leucocytaire	Beckman Coulter®
CD56	PE Cy7	NK	Beckman Coulter®
TRBC1 clone JOVI-1	FITC	LT matures	Ancell®
TCRγδ	PE Cy5,5	LT matures	Beckman Coulter®

APC : allophycocyanin ; **PB** : Pacific Blue™ ; **PE** : phycoerythrin ; **ECD** : R Phycoerythrin-Texas Red® ; **KO** : krome orange ; **FITC** : fluorescein isothiocyanate

Les données obtenues ont été analysées grâce au logiciel d'analyse de cytométrie en flux, Kaluza version 2.1 (Beckman Coulter®, Brea, California). Concernant le retraitement des données, celui-ci est basé sur l'utilisation d'un protocole défini *a priori* selon les données de la littérature.

La première étape du retraitement des données (Figure 38) consiste à ne conserver que les cellules passées individuellement devant le laser, c'est-à-dire de ne conserver que les singulets. Il est également important à cette étape d'éliminer tous les débris cellulaires ayant traversé le faisceau lumineux pour ne conserver que les cellules d'intérêt.

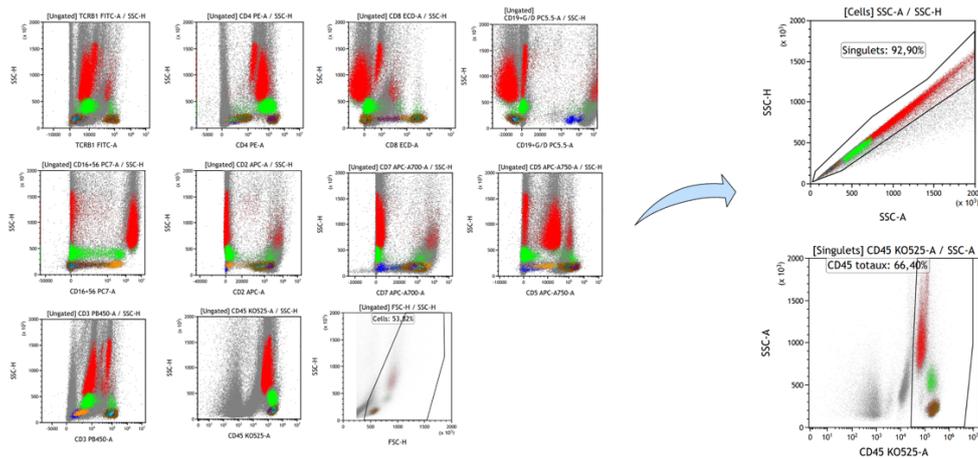


Figure 38 : Sélection des singlets et élimination des débris

Ensuite les différentes populations cellulaires exprimant le CD45, c'est-à-dire l'ensemble des globules blancs, seront nommées en fonction de leur granulométrie afin de pouvoir distinguer les monocytes, les granulocytes et les lymphocytes (Figure 39).

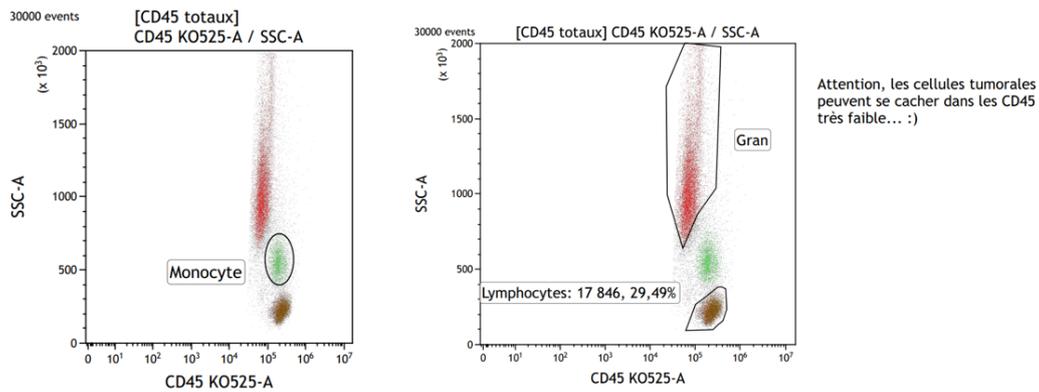


Figure 39 : Dénomination des populations cellulaires

La population lymphocytaire ainsi individualisée sera divisée en sous-populations et analysée en fonction de l'expression des divers marqueurs présents dans le panel. Ainsi, il sera possible de séparer les LB (Figure 41), des LT $\gamma\delta$ (Figure 42), des NK (Figure 43) qui n'expriment ni TRBC1, ni TRBC2 à leur surface (6), de la population d'intérêt que sont les LT $\alpha\beta$ (Figure 44), en fonction de leur expression du CD19 et du CD3 (Figure 40).

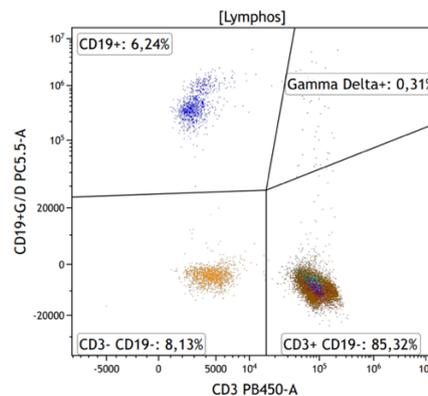


Figure 40 : Caractérisation de la population lymphocytaire
Les LB en bleu, les LT $\gamma\delta$ en noir, les NK en orange et les LT $\alpha\beta$ et marron

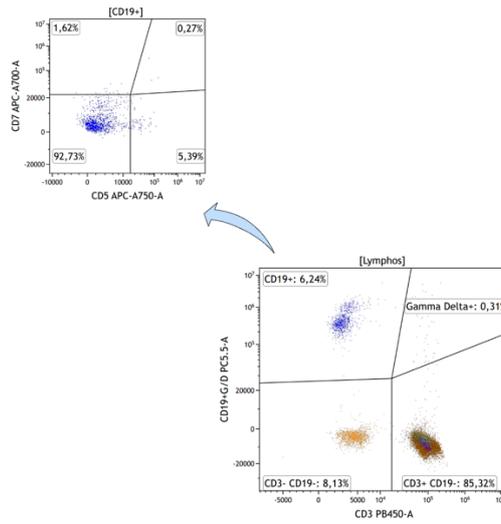


Figure 41 : Étude des LB

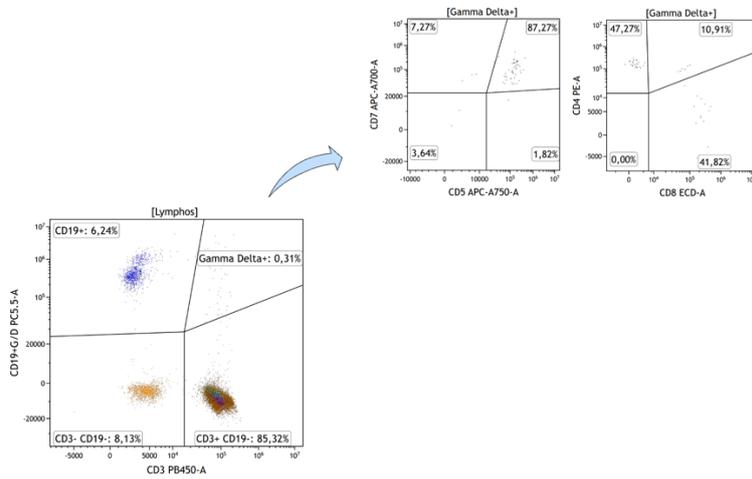


Figure 42 : Étude des LT $\gamma\delta$

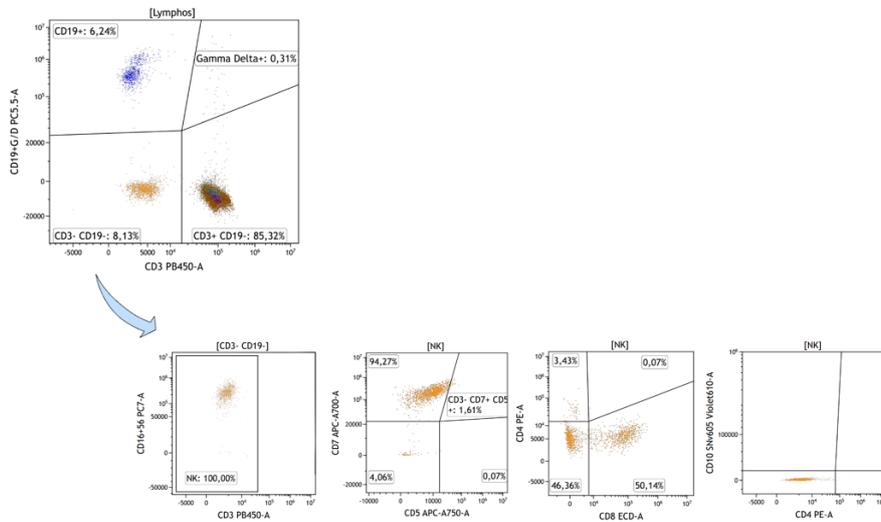


Figure 43 : Étude des NK

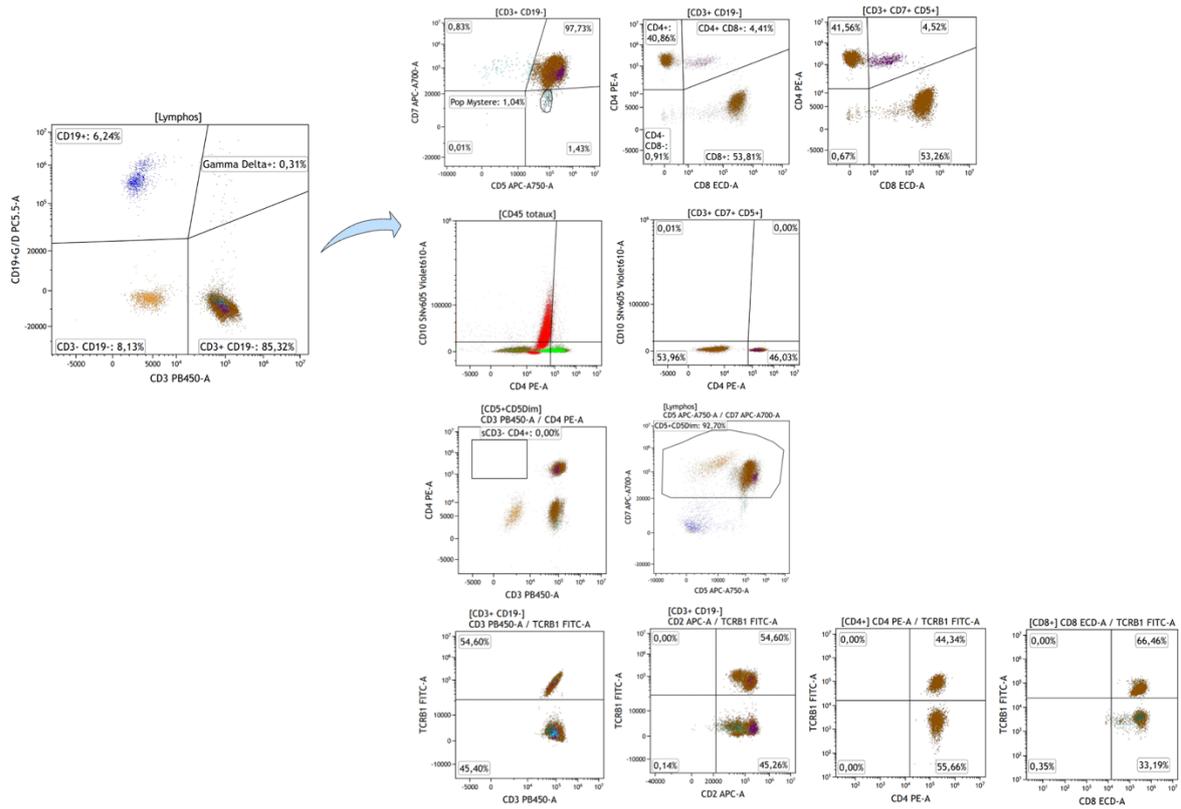


Figure 44 : Étude des LT $\alpha\beta$

Enfin, si la présence d'une population suspecte de malignité (appelée ici « population mystère ») l'impose, une étude de cette dernière sera également réalisée (Figure 45).

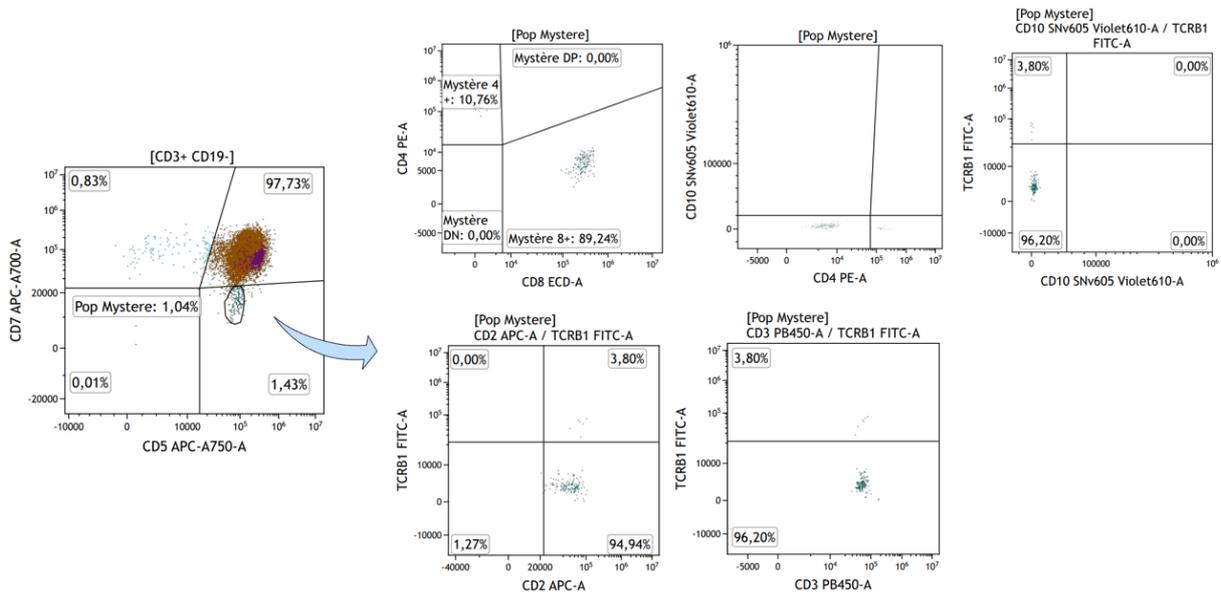


Figure 45 : Étude de la population mystère pathologique avec déséquilibre de TRBC1

L'étude des caractéristiques de cette population mystère permet de confirmer (Figure 45) ou non (Figure 46) son caractère pathologique.

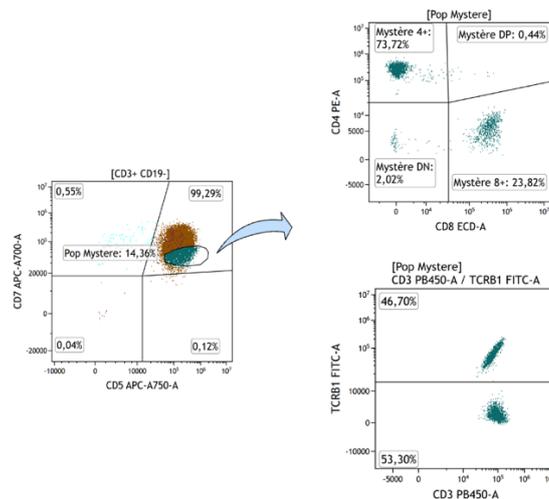


Figure 46 : Population mystère non pathologique sans déséquilibre de TRBC1

IV.2.3. CMF ancien panel

Le protocole utilisé auparavant, appelé, dans la suite du manuscrit, « ancien panel » est détaillé en Annexe 2. Les données ainsi obtenues ont ensuite été analysées grâce au logiciel d'analyse de cytométrie en flux, Kaluza version 2.1 (Beckman Coulter®, Brea, California).

IV.2.4. BM

Le protocole de biologie moléculaire utilisé pour déterminer la clonalité T est décrit en Annexe 3.

IV.2.5. Informations diverses

Les informations concernant les autres laboratoires (sérologies, CRP, anatomopathologie) ainsi que les renseignements cliniques ont été consignés après une étude minutieuse du logiciel Crossway.

IV.2.6. Statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant des tests non paramétriques de Mann-Whitney à l'aide du logiciel GraphPad Prism, version 8.0.0 pour Mac (GraphPad Software, Boston, Massachusetts, USA).

IV.2.7. Figures

Les figures originales présentées dans ce manuscrit ont été créées à l'aide de la banque d'images de Servier Medical Art (<https://smart.servier.com>) sous licence *Creative Commons*.

IV.3. Résultats

IV.3.1. Cohorte 1

La cohorte 1 établie sur la période du 28 mars 2023 au 23 août 2023 est constituée de 19 prélèvements appartenant à 17 patients, 11 femmes et 6 hommes ayant effectué un bilan biologique au CHU de Limoges et ses centres périphériques (CH de Brive).

Au sein de cette cohorte, 5 patients ne présentaient aucune lymphopathie T, 7 ont bénéficiés d'un bilan biologique pour suspicion de lymphopathie T et 7 dans le cadre du suivi de leur lymphopathie T. Sur l'ensemble des prélèvements reçus au laboratoire d'hématologie, 15 prélèvements correspondaient à des prélèvements sanguins, 3 à des prélèvements médullaires et 1 à une ponction de liquide d'ascite. Après analyse des prélèvements, 5 étaient normaux, 6 non pathologiques, 1 pathologique, 1 suivi négatif et 6 suivis positifs. L'ensemble des informations recueillies sur les patients de la cohorte 1 sont consignés en Annexe 4 et exposées de façon plus synthétique dans le Tableau 17.

La moyenne d'âge des 17 patients de la cohorte 1 est de $58,18 \pm 22,03$ ans avec une moyenne d'âge de $63,80 \pm 16,02$ ans chez les 5 patients atteints contre $55,83 \pm 24,29$ ans chez les 12 patients exempts de lymphopathie T. Ainsi, il n'y a pas de différence significative à 5% (*p-value* de 0,738) entre les deux groupes de la population.

La moyenne de la concentration en protéine C réactive (CRP) dans l'ensemble de la cohorte 1 (n=11) est de $22,64 \pm 25,03$ mg/L avec une moyenne de $13,50 \pm 14,85$ mg/L chez les patients atteints (n=2) contre $24,67 \pm 27,02$ mg/L chez les patients exempts de lymphopathie T (n=9). Par conséquent, il n'y a pas de différence significative à 5% (*p-value* de 0,981) entre les patients atteints et exempts de lymphopathie T.

La moyenne de la concentration en leucocytes totaux de la cohorte (n=12) est de $6,62 \pm 3,48$ G/L avec une moyenne de $6,82 \pm 1,50$ mg/L chez les patients atteints (n=3) contre $6,69 \pm 3,84$ mg/L chez les patients exempts de lymphopathie T (n=9). De ce fait, il n'y a pas de différence significative à 5% (*p-value* de 0,727) entre ces deux groupes.

La concentration en lymphocytes de la cohorte (n=11) est de $2,02 \pm 1,35$ G/L avec une moyenne de $1,55 \pm 1,00$ mg/L chez les patients atteints (n=3) contre $1,99 \pm 1,37$ mg/L chez les patients exempts de lymphopathie T (n=9). Ainsi, il n'y a pas de différence significative à 5% (*p-value* de 0,727) entre les patients atteints et exempts de lymphopathie T.

Chez les patients exempts de lymphopathie T (n=12), l'expression du TRBC1 est en moyenne de $43,74\% \pm 3,97$ sur les LT CD4⁺ contre $44,00\% \pm 13,03$ sur les LT CD8⁺ avec une moyenne de TRBC1⁺ sur les LT totaux à $43,95\% \pm 7,45$. Par ailleurs, chez les patients atteints de lymphopathie T (n=7), on retrouvera des déséquilibres d'expression de TRBC1 avec une moyenne de $99,93\% \pm 0,12$.

Les résultats ainsi obtenus (Tableau 17) ont permis de construire les tableaux de contingence suivants comparant le panel TRBC1 à l'étude avec l'ancien panel de CMF utilisé mais également avec la BM et l'anatomopathologie pour les patients ayant eu de telles analyses de prescrites.

IV.3.1.1. CMF ancien panel et CMF TRBC1

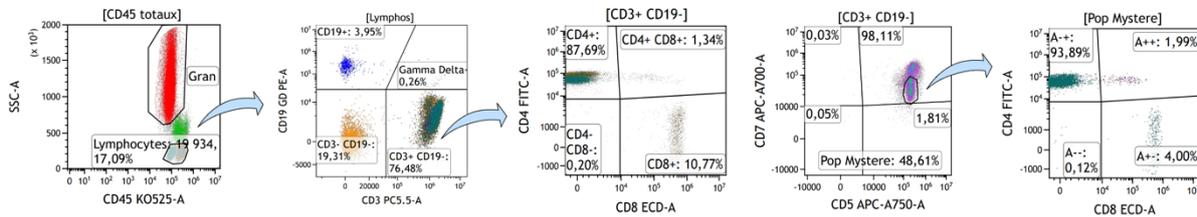
Tableau 13 : Tableau de contingence entre la CMF ancien panel et la CMF TRBC1

Méthodes étudiées		CMF ancien panel			
		Positif	Ambigu	Négatif	Total
CMF TRBC1	Positif	6	0	1	7
	Négatif	0	2	6	8
	Total	6	2	7	15

Ainsi, les résultats obtenus grâce au panel TRBC1 (Tableau 13) ont été parfaitement concordants avec l'ancien panel pour 12 prélèvements sur 15.

Par exemple, pour la patiente 7, suivie en dermatologie pour un SS, l'ancien panel retrouve la présence une population T anormale CD3⁺, CD4⁺, CD5⁺ et CD7^{faible}. De même, le nouveau panel retrouve également cette population avec un déséquilibre clonal du TRBC1 associé, en faveur d'une négativité de ce dernier (Figure 47).

Ancien panel T :



Nouveau panel T :

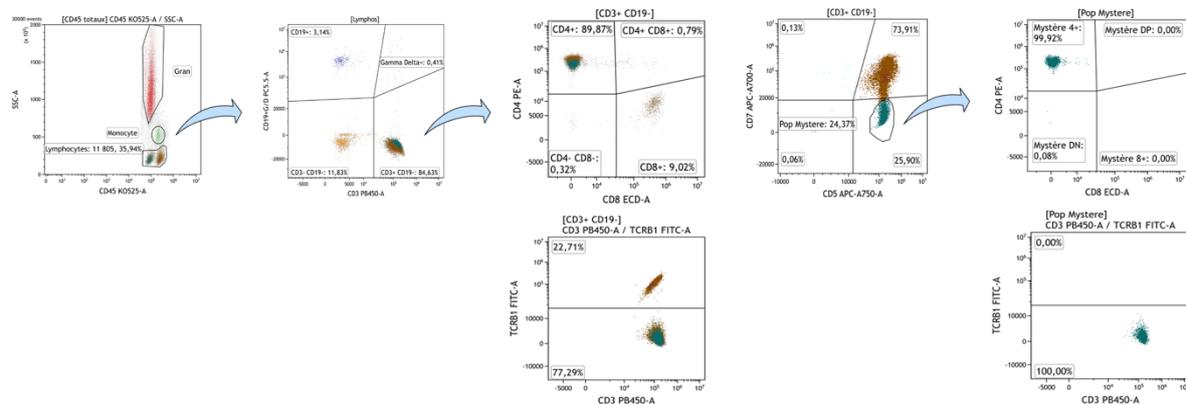


Figure 47 : Comparaison de l'ancien vs. le nouveau panel en CMF de la patiente 7

Pour deux prélèvements (patients 11 et 14), le panel TRBC1 a permis de trancher en faveur d'une absence de lymphopathie T confirmé par la BM, alors que l'ancien panel ne permettait pas d'avancer cette affirmation. Par exemple, l'ancien panel retrouvait pour le patient 11, une population T atypique CD3⁺, CD7^{fort}, CD5⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD10⁻ représentant environ 60% des lymphocytes totaux, laissant un doute quant au caractère malin de cette population. Le panel TRBC1 ne trouvait pas de population atypique. Ce résultat a été confirmé *a posteriori* par la BM qui ne retrouvait pas de profil monoclonal T.

Pour finir, un seul des prélèvements analysés a retrouvé une discordance entre l'ancien et le nouveau panel. Il s'agit du prélèvement de moelle osseuse du patient 17 suivi au CH de Brive dans le cadre de son lymphome non Hodgkinien T (LNH T) périphérique à grandes cellules sur parotidectomie droite de stade II avec localisation parotidienne et sur l'anneau de Waldeyer diagnostiqué en 2016. Initialement, l'immunophénotypage des cellules T sur la pièce de parotidectomie droite révélait une population tumorale exprimant les marqueurs CD2, CD3, CD4 et CD8, CD5 sans expression du CD7 et une absence d'expression du CD30 ainsi que de ALK. Suite à une suspicion de rechute de son lymphome, un prélèvement de MO est adressé au CHU de Limoges pour un immunophénotypage lymphoïde T. L'ancien panel ne permet pas de mettre en évidence de population cellulaire T anormale (Figure 48).

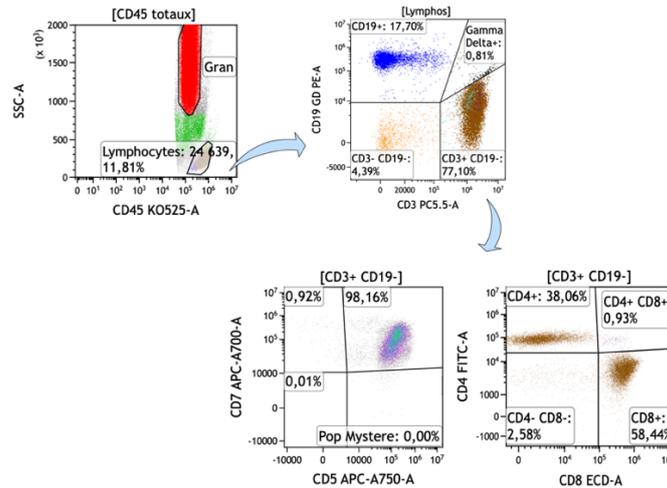


Figure 48 : Résultat de l'ancien panel en CMF du patient 17

A l'inverse, l'analyse de ce même échantillon avec le panel TRBC1 identifie une population CD45^{faible}, CD10⁻, CD4⁻, CD8[±], CD3⁺ et présentant un déséquilibre du TRBC1 (Figure 49).

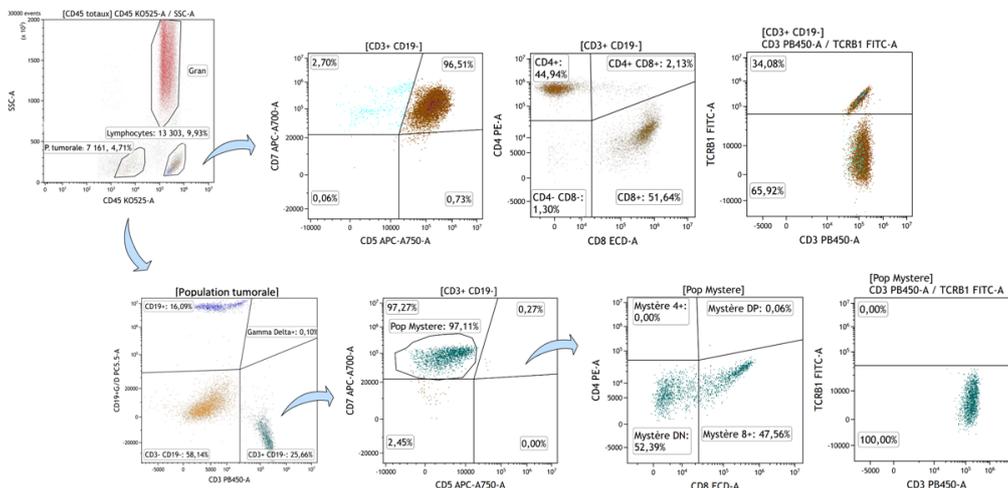


Figure 49 : Résultat du nouveau panel en CMF du patient 17

Cette découverte est également confirmée en BM avec un profil monoclonal retrouvant 2 pics.

IV.3.1.2. CMF TRBC1 et BM

Tableau 14 : Tableau de contingence entre la biologie moléculaire et la CMF TRBC1

Méthodes étudiées		Biologie moléculaire (méthode de référence)				
		Positif	Ambigu	Négatif	Échec	Total
CMF TRBC1	Positif	6	0	0	1	7
	Négatif	0	1	11	0	12
	Total	6	1	11	1	19

En comparant les résultats du panel TRBC1 et de la BM (Tableau 14), 17 prélèvements sur 19 ont été retrouvés concordants. La patiente 9 par exemple, suivie en hématologie pour un LNH T de type AITL de stade IV médullaire et cutané chez laquelle sera retrouvée à la fois une population dans le sang présentant un déséquilibre clonal du TRBC1 en faveur du TRBC1⁻ (Figure 50) ainsi qu'un profil monoclonal en BM (Figure 51).

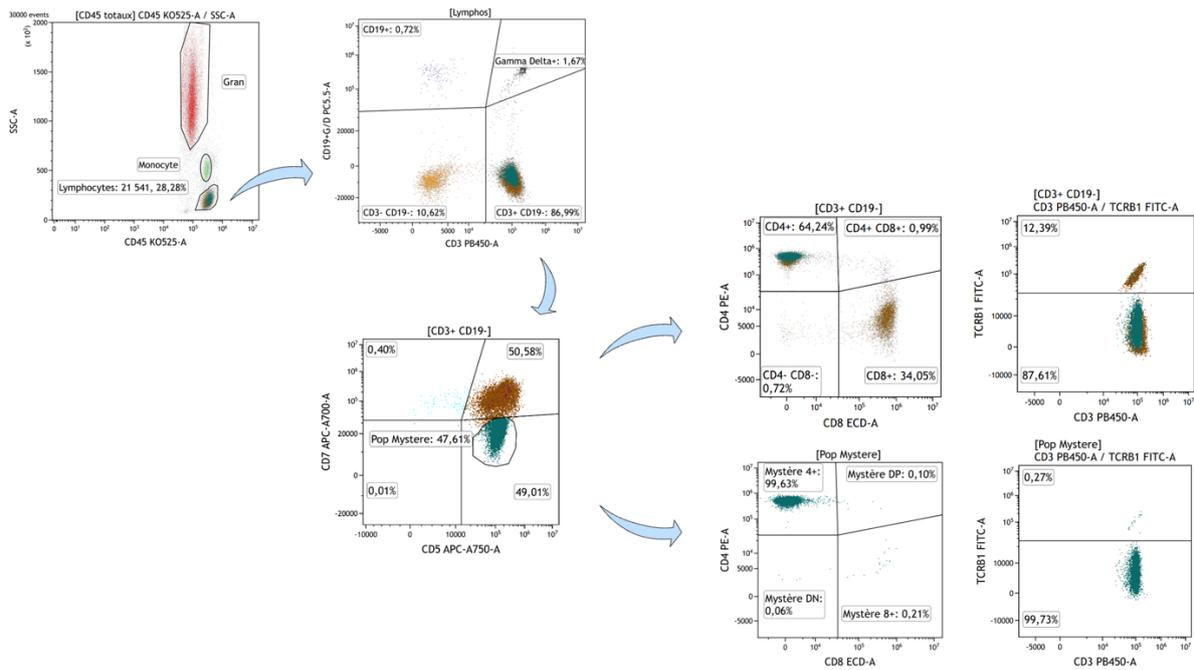


Figure 50 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du prélèvement sanguin de la patiente 9

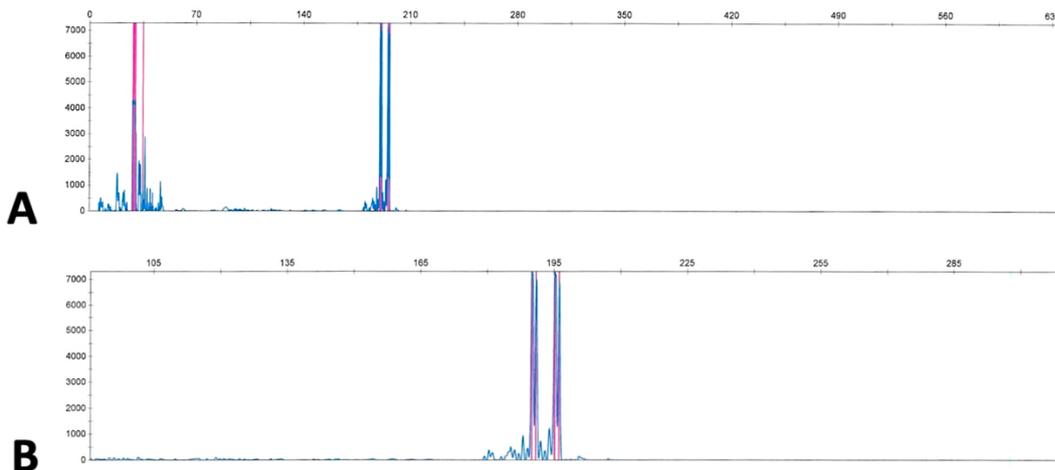


Figure 51 : Résultats de clonalité T en BM du prélèvement sanguin de la patiente 9

A : profil monoclonal composé de 2 pics monoclonaux

B : zoom de la zone aux alentours de 200 paires de bases (pdb) suspecte

Pour l'un des prélèvements restants, la BM n'a pu être réalisée sur la MO de cette même patiente, pour cause de mauvaise qualité de l'ADN (Figure 53). Cependant, l'analyse effectuée en CMF à la fois avec l'ancien et le nouveau panel (Figure 52) a permis de conclure à la persistance d'une population tumorale T.

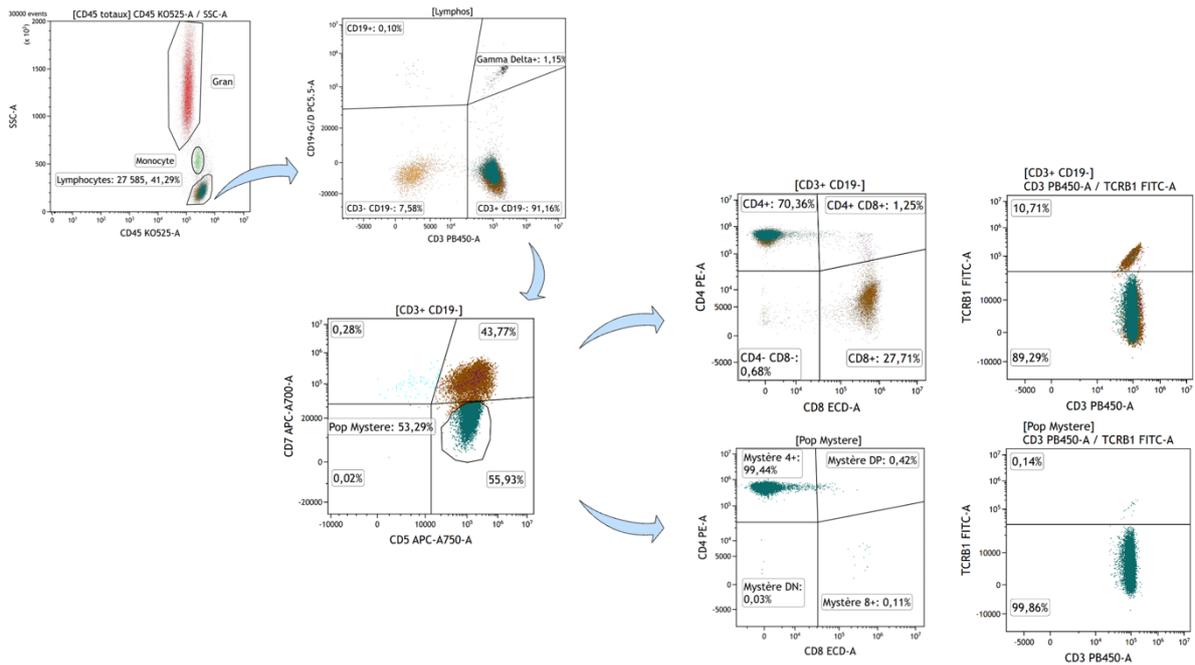


Figure 52 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du prélèvement médullaire de la patiente 9

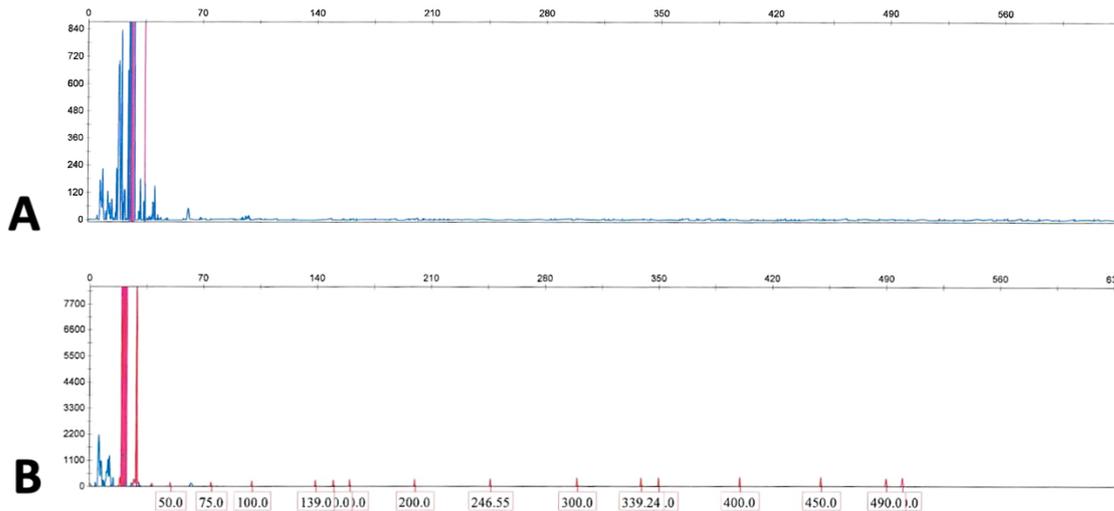


Figure 53 : Résultats de clonalité T en BM du prélèvement médullaire de la patiente 9

A : profil de l'échantillon analysé

B : témoin de qualité de l'ADN, absence des témoins à 100, 200, 300 et 400 pdb

Enfin, pour le prélèvement restant, la BM n'avait pas permis contrairement au panel TRBC1, de trancher sur le caractère clonal ou non d'une possible population suspecte. Il s'agit par exemple du prélèvement sanguin du patient 6 vu en consultation pour suspicion de MF/SS pendant laquelle a été réalisée une biopsie cutanée rendue ambiguë à l'anatomopathologie du fait de la mise en évidence d'une population considérée comme suspecte. Des examens complémentaires ont ainsi été demandés à la recherche d'autres arguments en faveur ou non d'un MF/SS. Le résultat de la BM n'a pas permis de trancher puisque celui-ci est également revenu ambigu avec la présence d'un profil polyclonal irrégulier, comportant de rares pics d'intensité relativement faible, à contrôler à distance (Figure 54).

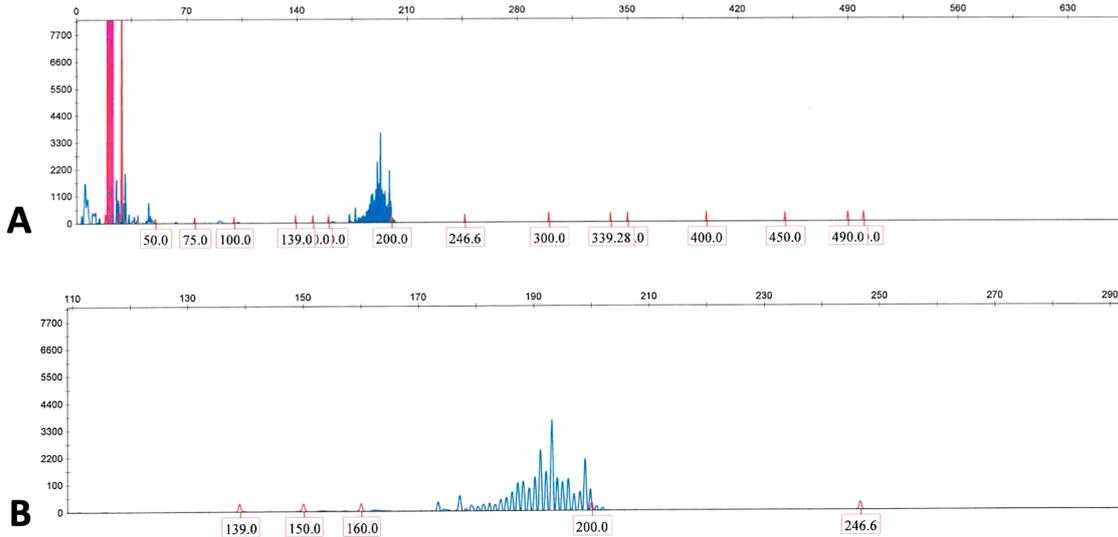


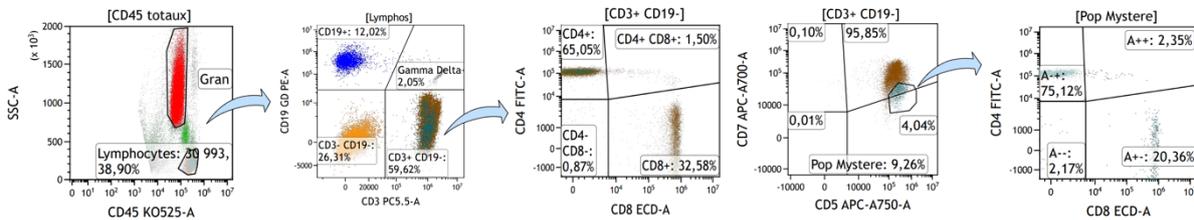
Figure 54 : Résultats de clonalité T en BM du prélèvement médullaire du patient 6

A : profil polyclonal irrégulier à surveiller, rares pics d'intensité relativement faible

B : zoom de la zone aux alentours de 200 paires de bases (pdb) suspecte

A l'inverse, l'analyse effectuée en CMF à la fois avec l'ancien et le nouveau panel (Figure 55) n'ont pas permis de mettre en évidence la présence d'une population anormale.

Ancien panel T :



Nouveau panel T :

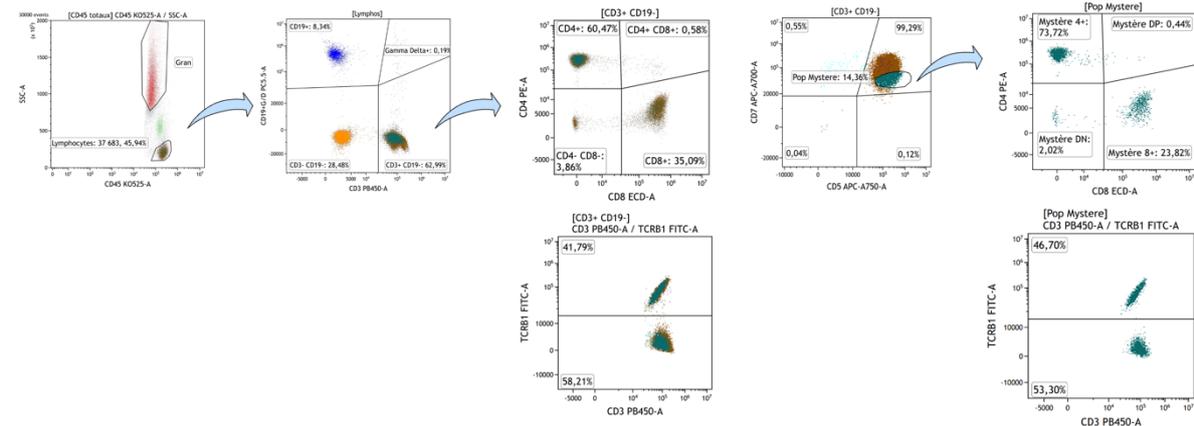


Figure 55 : Comparaison de l'ancien vs. le nouveau panel en CMF du patient 6

De plus, le reste des signes cliniques observés pendant la consultation ne semblait finalement pas en faveur d'un MF/SS d'après les informations consignées dans le compte rendu d'hématologie clinique.

IV.3.1.3. CMF TRBC1 et anatomopathologie

Tableau 15 : Tableau de contingence entre l'anatomopathologie et la CMF TRBC1

Méthodes étudiées		Anatomopathologie			
		Positif	Ambigu	Négatif	Total
CMF TRBC1	Positif	6	0	0	6
	Négatif	0	1	1	2
	Total	6	1	1	8

Pour terminer, la méthode à l'étude a également été comparée à l'analyse par anatomopathologie (Tableau 15). A l'issue de cette comparaison, une seule discordance sur 8 prélèvements a pu être retrouvée. Il s'agit du patient 6 pour lequel une relecture du résultat d'anatomopathologie est toujours en cours au CHU de Bordeaux.

IV.3.1.4. Comparaison de méthodes

En parallèle de ces analyses, une vérification de la corrélation (Figure 56) et de l'absence de différence (Figure 57) entre l'ancien et le nouveau panel a également été réalisée. Pour cela, les modalités actuellement en vigueur dans le secteur de CMF au laboratoire d'hématologie du CHU de Limoges qui consistent à comparer plusieurs paramètres, ici au nombre de cinq (pourcentage de lymphocytes totaux, pourcentage de CD3⁺CD19⁻, pourcentage de CD4⁺, pourcentage de CD8⁺ et pourcentage de CD7⁺CD5⁺) chez plusieurs patients (ici trois) selon les deux techniques à l'étude afin d'obtenir un nombre suffisant de valeurs pour effectuer une comparaison la plus fiable possible ont été appliquées.

Tout d'abord, la vérification de la corrélation (Tableau 16) a permis de mettre en évidence un coefficient de corrélation (r) très proche de 1, c'est-à-dire une relation positive très forte entre les deux variables. De plus, le calcul du coefficient de détermination linéaire de Pearson (r²) permettant d'obtenir lui aussi une valeur proche de 1 confirme et renforce la corrélation entre les deux panels étudiés tout au long de ce travail.

Ensuite, le reste des données obtenues lors de cette analyse de la corrélation a permis de déterminer la droite de régression (y = ax + b) suivante y = 0,9865x + 0,8914 pour laquelle la valeur de la pente est comprise entre 0,9 et 1,1 et la valeur de l'origine entre -1 et 1, comme requis par les organismes de contrôle de la fiabilité et de la qualité des examens de biologie médicale tels que le Comité Français d'Accréditation (COFRAC).

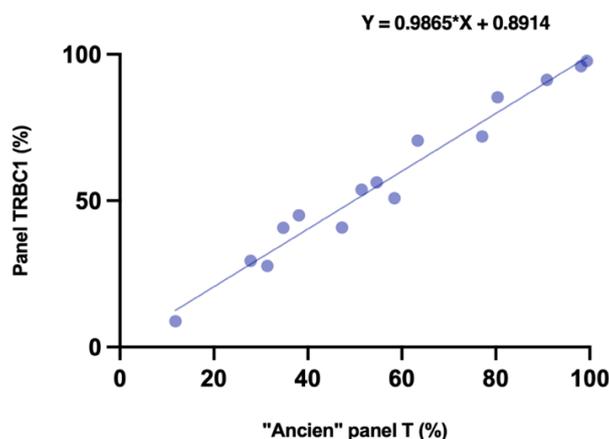


Figure 56 : Corrélation entre le nouveau et l'ancien panel

Tableau 16 : Valeurs de corrélation entre le nouveau et l'ancien panel

Paramètres	Abréviations	Valeurs	Seuils
Pente	a	0,987	[0,9 ; 1,1]
Origine	b	0,891	[-1 ; 1]
Coefficient de corrélation	r	0,984	
Coefficient de détermination linéaire de Pearson	r ²	0,968	

Pour finir, la génération d'un diagramme des différences (ou diagramme de Bland-Altman) (Figure 57) a permis de mesurer et d'évaluer la concordance entre les deux panels. Premièrement, la répartition de part et d'autre de la moyenne tend à démontrer l'absence de biais systématique qui fausserait constamment les résultats. Secondairement, la dispersion des points étant comprise entre -2 et 2 écart-types est en faveur d'une absence de valeurs aberrantes dans cet échantillon.

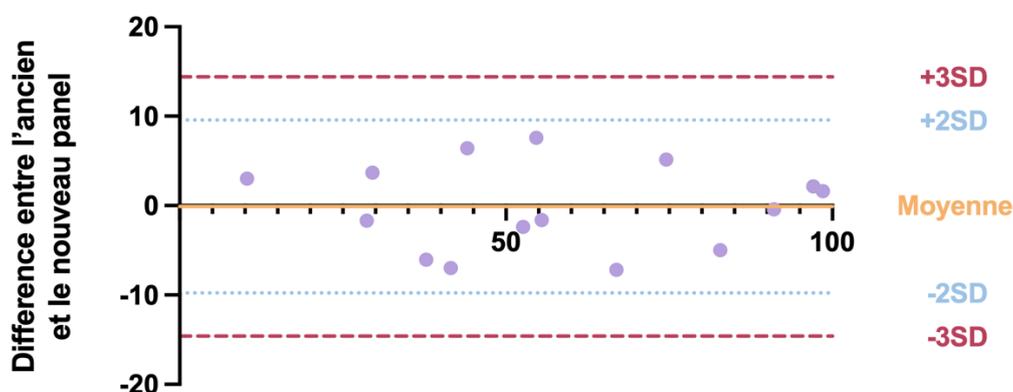


Figure 57 : Diagramme des différences entre le nouveau et l'ancien panel

Grâce à l'ensemble des données obtenues par le recueil de la cohorte 1 et de l'étude de corrélation des deux panels, le panel TRBC1 a pu être validé. Par conséquent, son utilisation en routine a également pu être lancée au sein du laboratoire d'hématologie à compter du 24 août 2023 avec la diffusion d'une note de service dans les jours qui suivirent (Annexe 6).

Tableau 17 : Tableau des patients inclus dans la cohorte 1

Informations patients		Anatomo-pathologie	Numération formule sanguine		Biologie moléculaire	CMF ancien panel	CMF TRBC1			Conclusion
ID	Contexte	Résultats	GB (G/L)	Ly (G/L)	Résultats	Résultats	% TRCB1+	% TRCB1-	Résultats	Résultats
1S	Pas de suspicion de syndrome lymphoprolifératif		4,56		Négatif	Négatif	54,63	45,37	Négatif	Normal
2S					Négatif		33,11	66,89	Négatif	Normal
3S			14,11	3,8	Négatif		45,30	54,70	Négatif	Normal
4S			5,68	1,63	Négatif		39,60	60,40	Négatif	Normal
5S			6,16	4,44	Négatif		34,21	65,79	Négatif	Normal
6S	Suspicion de MF	Ambigu			Ambigu	Négatif	41,79	58,21	Négatif	Non pathologique
7S	Suivi de SS	Positif	5,54	0,75	Positif	Positif	0,00	100,00	Positif	Suivi positif
8S	Bilan d'élimination		6,36	2,92	Négatif	Négatif	45,16	54,84	Négatif	Non pathologique
9M	Suivi de AITL	Positif			Échec	Positif	0,33	99,67	Positif	Suivi positif
9S		Positif	8,47	2,67	Positif	Positif	0,14	99,86	Positif	
10M	Suivi de T-PLL	Positif			Positif	Positif	0,00	100,00	Positif	Suivi positif
10S		Positif	6,44	1,22	Positif	Positif	0,00	100,00	Positif	
11S	Déséquilibre CD4/CD8		10,86	1,04	Négatif	Ambigu	40,37	59,63	Négatif	Non pathologique
12S	Transformation en LAM ou MF ?	Négatif	2,24	0,68	Négatif	Négatif	46,60	53,40	Négatif	Non pathologique
13S	Inversion CD4/CD8				Négatif	Négatif	37,93	62,07	Négatif	Non pathologique
14S	Suspicion de LGL		2,42	1,02	Négatif	Ambigu	42,95	57,05	Négatif	Suivi négatif
15S	Suspicion LNH				Négatif	Négatif	55,68	44,32	Négatif	Non pathologique
16A	Suspicion de ALK-ALCL	Positif			Positif	Positif	100,00	0,00	Positif	Pathologique
17S	Suivi LNH T périphérique	Positif			Positif	Négatif	0,00	100,00	Positif	Suivi positif

ID : identification ; NFS : numération formule sanguine ; GB : globules blancs ; Ly : lymphocytes ; S : sang ; M : moelle ; A : ascite

IV.3.2. Cohorte 2

La cohorte 2 établie sur la période du 24 août 2023 au 15 janvier 2024 est constituée de 59 prélèvements appartenant à 52 patients, 16 femmes et 36 hommes ayant effectué un bilan biologique au CHU de Limoges et ses centres périphériques (CH de Brive, CH de Saint Junien et CH de Saint-Yrieix-la-Perche). Parmi ces 52 patients, 2 ont déjà eu des prélèvements analysés dans la cohorte 1. Au sein de cette cohorte d'étude, 29 prélèvements ont été analysés pour suspicion de lymphopathie T, 27 dans le cadre du suivi de leur lymphopathie T et 3 pour un motif inconnu principalement pour des prélèvements provenant de centres hospitaliers périphériques. Sur l'ensemble des prélèvements reçus au laboratoire d'hématologie, 45 prélèvements correspondaient à des prélèvements sanguins, 11 à des prélèvements médullaires, 1 à une ponction de liquide pleural et 2 à des biopsies ganglionnaires. L'ensemble des informations recueillies sur les patients de la cohorte 2 sont consignés en Annexe 5 et exposés de façon plus synthétique dans le Tableau 20.

La moyenne d'âge des 52 patients de la cohorte 2 est de $59,71 \pm 18,42$ ans avec une moyenne d'âge de $69,12 \pm 11,14$ ans chez les 17 patients avec des résultats pathologiques contre $55,51 \pm 19,59$ ans chez les 35 patients ne présentant pas de résultats pathologiques. Par conséquent, il existe une différence significative à 5% (*p-value* de 0,029) entre les patients atteints et exempts de lymphopathie T.

La moyenne de la concentration en CRP dans l'ensemble de la cohorte 2 ($n=27$) est de $17,26 \pm 25,54$ mg/L avec une moyenne de $16,00 \pm 13,79$ mg/L chez les patients présentant des résultats pathologiques ($n=8$) contre $17,79 \pm 29,45$ mg/L chez les patients exempts de résultats pathologiques ($n=19$). Ainsi, il n'existe pas de différence significative à 5% (*p-value* de 0,440) entre les patients atteints et exempts de lymphopathie T.

La moyenne de la concentration en leucocytes totaux de la cohorte 2 ($n=30$) est de $9,37 \pm 7,38$ G/L avec une moyenne de $10,25 \pm 4,69$ mg/L chez les patients atteints ($n=8$) contre $9,05 \pm 8,22$ mg/L chez les patients exempts de lymphopathie T ($n=22$). De ce fait, il n'existe pas de différence significative à 5% (*p-value* de 0,276) entre les deux groupes.

La concentration en lymphocytes de la cohorte 2 ($n=40$) est de $2,15 \pm 2,06$ G/L avec une moyenne de $2,10 \pm 2,16$ mg/L chez les patients présentant des résultats pathologiques ($n=13$) contre $2,17 \pm 2,06$ mg/L chez les patients exempts de résultats pathologiques ($n=27$). Ainsi, il n'existe pas de différence significative à 5% (*p-value* de 0,749) entre les patients atteints et exempts de lymphopathie T.

Chez les patients exempts de lymphopathie T ($n=28$), l'expression du TRBC1 est en moyenne de $44,33\% \pm 4,71$ sur les LT CD4⁺ et de $36,34\% \pm 8,78$ sur les LT CD8⁺ avec une moyenne de TRBC1⁺ sur les LT totaux à $41,15\% \pm 7,44$. En revanche, chez les patients anciennement connus pour une lymphopathie T mais, chez lesquels aucune population T anormale n'a été mise en évidence sur le prélèvement analysé ($n=10$), l'expression du TRBC1 est en moyenne de $41,37\% \pm 4,17$ sur les LT CD4⁺ contre $34,20\% \pm 7,22$ sur les LT CD8⁺ avec une moyenne de TRBC1⁺ sur les LT totaux à $39,21\% \pm 4,73$. Après réalisation de tests statistiques, il a été déterminé qu'il n'existe pas de différence significative à 5% (*p-value* de 0,217) entre les patients exempts de lymphopathies T et ceux ayant un suivi négatif de leur pathologie lymphoïde T. Par ailleurs, chez les patients atteints d'une lymphopathie T pouvant être mise en évidence sur le prélèvement analysé dans la cohorte 2 ($n=18$), le déséquilibre d'expression de TRBC1 est de $94,38\% \pm 4,58$.

Les résultats ainsi obtenus (Tableau 20) ont permis de construire les tableaux de contingence suivants comparant le panel TRBC1 à l'étude, la BM (Tableau 18) et l'anatomopathologie (Tableau 19) pour les patients ayant eu de telles analyses de prescrites.

Tableau 18 : Tableau de contingence entre la biologie moléculaire et la CMF TRBC1

Méthodes étudiées		Biologie moléculaire (méthode de référence)				Total
		Positif	Ambigu	Négatif	Échec	
CMF TRBC1	Positif	6	0	0	1	7
	Ambigu	0	1	1	0	2
	Négatif	3	0	11	0	14
	Total	9	1	12	1	23

Tableau 19 : Tableau de contingence entre l'anatomopathologie et la CMF TRBC1

Méthodes étudiées		Anatomopathologie			Total
		Positif	Ambigu	Négatif	
CMF TRBC1	Positif	3	0	3	6
	Négatif	1	1	10	12
	Total	4	1	13	18

Ainsi, les résultats obtenus avec la méthode à l'étude ont été concordants avec la BM pour 19 prélèvements sur 23 et concordants avec l'anatomopathologie pour 13 prélèvements sur 18. Par exemple, la patiente 23 présente des résultats concordants à la fois entre la CMF et la BM mais aussi entre l'anatomopathologie et la CMF. En effet, il a été mis en évidence chez cette patiente ayant consulté pour une suspicion de SS, une population T anormale CD2⁺, CD3⁺, CD4⁺, CD5⁺, CD7⁻ compatible avec un SS en anatomopathologie mais également en CMF qui retrouve cette même population T anormale CD3⁺, CD2⁺, CD5⁺, CD7^{faible}, CD4⁺, CD8⁻, CD10⁻ et TRBC1 clonal représentant 55% des lymphocytes totaux (Figure 58).

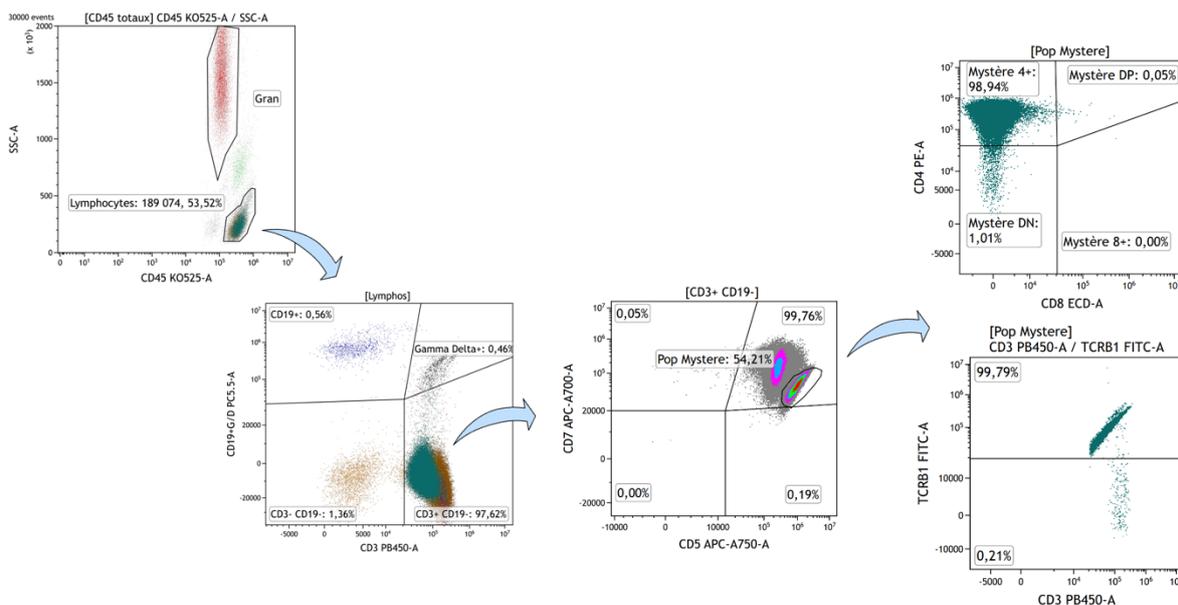


Figure 58 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du prélèvement sanguin de la patiente 23

Pour finir, le caractère clonal de cette population a également pu être démontré grâce à la BM (Figure 59) confirmant ainsi le diagnostic de SS.

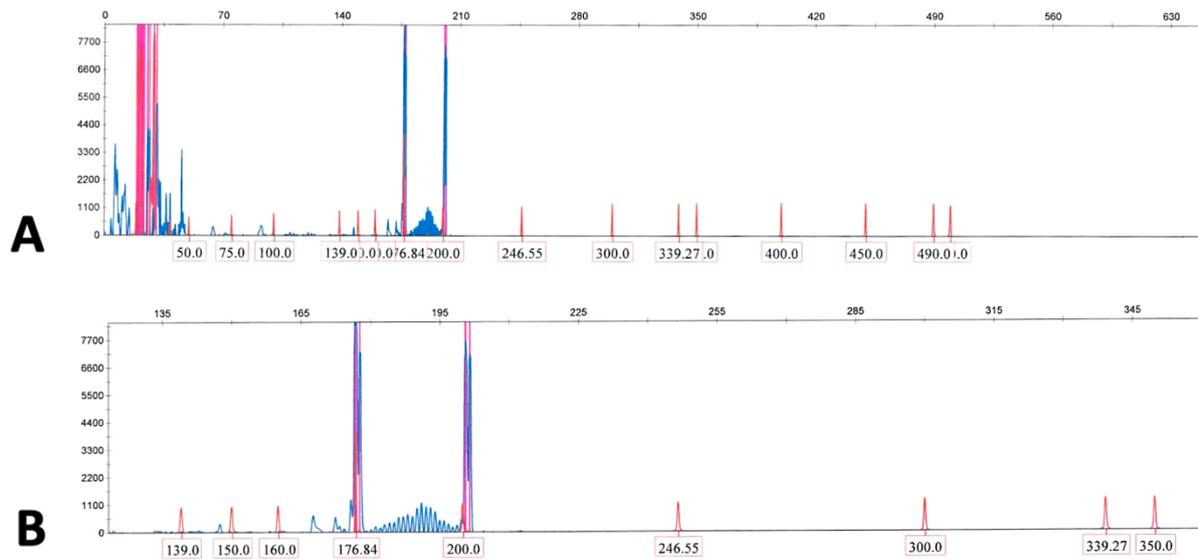


Figure 59 : Résultats de clonalité T en BM du prélèvement sanguin de la patiente 23

A : profil monoclonal

B : zoom de la zone aux alentours de 200 paires de bases (pdb) suspecte

Les résultats discordants de cette cohorte d'étude ont été analysés minutieusement et ont permis de discuter l'apport du panel TRBC1 au sein du laboratoire, mais également de mettre en évidence les points critiques à maîtriser quant à sa bonne utilisation. Ces différents aspects seront abordés dans la discussion de ce manuscrit.

Tableau 20 : Tableau des patients inclus dans la cohorte 2

Informations patients		Anatomo-pathologie	Numération formule sanguine		Biologie moléculaire	CMF TRBC1				Conclusion
ID	Contexte	Résultats	GB (G/L)	Ly (G/L)	Résultats	Résultats	% TRCB1 ⁺	% TRCB1 ⁻	2 ^e lecture	Résultats
18S	Suivi d'une hyperéosinophilie	Négatif	10,51	1,55	Positif	Positif	95,30	4,70	Positif	Pathologique
19S	Suspicion de SS			2,09	Positif	Négatif	33,01	66,99	Négatif	Pathologique
20S	Suspicion de lymphopathie T		4,85	0,58		Négatif	34,18	65,82	Négatif	Non pathologique
21S	Suivi d'une hyperéosinophilie		8,92	2,47	Ambigu	Ambigu	39,73	60,02	Ambigu	Suivi négatif
10M	Suivi de T-PLL				Négatif	Ambigu	10,78	89,22	Ambigu	Suivi négatif
22S	Suivi de MF		10,91	0,66	Positif	Positif	3,9	96,10	Positif	Suivi positif
23S	Suspicion de SS	Positif	17,54	6,9	Positif	Positif	99,61	0,39	Positif	Pathologique
24S	Suivi d'un SHE		9,49	2,23		Négatif	45,14	54,86	Négatif	Non pathologique
25S				1,14		Négatif	44,61	55,39	Négatif	Non pathologique
26M	Suivi de AITL					Positif	0,00	100,00	Positif	Suivi positif
27S	Suivi de AITL		5,31	1,02		Positif	0,00	100,00	Positif	Suivi positif
28S	Suspicion de lymphopathie T			3,81		Négatif	43,01	56,99	Négatif	Non pathologique
29M	Suspicion de lymphopathie T				Positif	Positif	12,66	87,34	Positif	Pathologique
30S	Suspicion de BIA-ALCL	Positif		1,02		Négatif	37,68	62,22	Négatif	Pathologique
31M	Contrôle de bilan de neutropénie				Échec	Positif	11,66	88,34	Positif	Pathologique
32S	Exacerbation de dermatite atopique, MF ou surinfection ?	Négatif	11,8	2,25		Négatif	42,79	57,21	Négatif	Non pathologique

33S	Exploration hyperlymphocytose en chirurgie orthopédique			9,84		Négatif	42,99	57,01	Négatif	Non pathologique
34M	Suivi de T-PLL				Négatif	Négatif	44,1	55,9	Négatif	Suivi négatif
35M	Suivi d'une hyperéosinophilie	Négatif			Négatif	Négatif	39,33	60,67	Négatif	Non pathologique
35S		Négatif	43,22	3,85	Négatif	Négatif	40,19	59,81	Négatif	Non pathologique
36S	Suivi de lymphopathie T			0,5		Positif	0,57	99,43	Positif	Suivi positif
37S	Suspicion de MF	Négatif	7,06	1,75	Négatif	Négatif	46,17	53,83	Négatif	Non pathologique
38S	Suivi de AITL		3,91	1,06		Positif	5,19	94,81	Positif	Suivi positif
39S	Suivi de T-LGLL		15,82	6,72		Positif	13,27	86,73	Positif	Suivi positif
40S	Suspicion de MF ou SS	Négatif	9,84	3,75		Positif	10,08	89,92	Positif	Non pathologique
27LP	Suivi de AITL					Négatif	32,78	67,22	Négatif	Suivi négatif
41S	Suspicion de MF ou SS	Négatif	9,82	1,79		Positif	10,89	89,11	Positif	Pathologique
42S				0,65		Négatif	40,22	59,78	Négatif	Non pathologique
43S	Suspicion de lymphopathie T			1,98		Négatif	5,87	94,13	Négatif	Pathologique
14S	Suspicion de T-LGLL		3,24	0,32		Négatif	42,72	57,28	Négatif	Suivi négatif
10G	Suivi de T-PLL					Échec			Échec	Échec
44S	Suspicion de <i>pityriasis rubra piliaire</i>	Négatif	Prélèvement coagulé		Négatif	Négatif	47,01	52,99	Négatif	Non pathologique
45M	Suspicion lymphome gastrique					Négatif	42,64	57,36	Négatif	Non pathologique
46S	Bilan étiologique	Négatif	11,09	0,67	Négatif	Négatif	42,88	57,12	Négatif	Non pathologique

47S	Suspicion de lymphopathie T	Positif		0,34		Positif	6,29	93,71	Positif	Pathologique
48S	Suivi de lymphopathie T		13,61	0,48		Négatif	36,88	63,12	Négatif	Suivi négatif
49S	Suspicion de MF	Ambigu	6,56	2,54	Positif	Négatif	38,98	61,02	Négatif	Douteux
50S	Évaluation projet de CAR-T Cells		5,41	0,08		Négatif	42,2	57,8	Négatif	Non pathologique
51S	Bilan étiologique		4,18	0,41		Négatif	37,16	62,84	Négatif	Non pathologique
52S	Bilan étiologique		3,86	1,65		Négatif	41,76	58,24	Négatif	Non pathologique
51S	Bilan étiologique		4,65	0,64		Négatif	37,77	62,23	Négatif	Non pathologique
53S				4,89		Négatif	52,09	47,91	Négatif	Non pathologique
54S	Suspicion de lymphome cutanée	Négatif	3,98	2,05	Négatif	Négatif	43,89	56,11	Négatif	Non pathologique
55S	Lymphome T digestif associé à une maladie cœliaque	Positif	7,34	3,98	Négatif	Négatif	44,18	55,82	Négatif	Suivi négatif
56S	Suivi post-allogreffe	Négatif	10,04	1,09	Négatif	Négatif	42,23	57,77	Négatif	Non pathologique
57S			8,6	0,84		Négatif	42,65	57,35	Négatif	Non pathologique
34M	Suivi de T-PLL				Négatif	Négatif	45,92	54,08	Négatif	Suivi négatif
58G	Suspicion de lymphome	Négatif		9,3		Négatif	52,7	47,3	Négatif	Non pathologique
59S	Suivi de SS					Positif	1,04	98,96	Positif	Suivi positif
60S	Suspicion de lymphopathie T					Négatif	33,14	66,86	Négatif	Non pathologique
61M	Suivi d'un lymphome T/NK extra-ganglionnaire de type nasal avec SAM				Négatif	Négatif	36,07	63,93	Négatif	Suivi négatif

62S						Négatif	44	56	Négatif	Non pathologique
63S	Neutropénie ?		3,99	1,67		Négatif	42,27	57,73	Négatif	Non pathologique
64S	Suivi d'une hyperéosinophilie		11,68	3,94		Négatif	38,38	61,62	Négatif	Non pathologique
18S	Suivi d'un SHE lymphoïde T d'expression cutanée	Positif	8,14	1,68		Positif	95,63	4,37	Positif	Suivi positif
65S	Suivi de T-PLL		5,77	1,12		Négatif	35,43	64,57	Négatif	Suivi négatif
66S	Contrôle anomalie populations lymphocytaires					Négatif	40,7	59,3	Négatif	Non pathologique
18M	Suivi d'un SHE lymphoïde T d'expression cutanée					Positif	95,29	4,71	Positif	Suivi positif
67M	Lymphome T intestinal monomorphe épithéliotropique avec absence de lymphocytes intra-épithéliaux				Positif	Négatif	34,3	65,7	Négatif	Suivi positif

ID : identification ; **NFS** : numération formule sanguine ; **GB** : globules blancs ; **Ly** : lymphocytes ; **S** : sang ; **M** : moelle ; **LP** : liquide pleural ; **G** : ganglion ; **SAM** : syndrome d'activation macrophagique.

V. Discussion

Grâce à la meilleure compréhension de la physiopathologie des lymphoproliférations, de nouvelles techniques innovantes permettant de diagnostiquer mais également de mieux traiter les patients atteints de syndromes lymphoprolifératifs T ont pu être mises au point ces dernières années. Comme abordé précédemment dans ce manuscrit, le diagnostic de ce type de pathologie n'est pas chose facile de par certaines de ses caractéristiques propres telles que sa possible présence exclusivement tissulaire ou ganglionnaire et donc sans expression dans le sang circulant mais également de contraintes techniques liées à l'utilisation de techniques diagnostiques chronophages, difficiles et coûteuses. Ainsi, le développement de techniques abordables permettant de pallier à ces problématiques est devenu une nécessité.

Dans cet objectif, il a été développé au CHU de Limoges, sur la base des travaux menés à la *Mayo Clinic*, un nouveau protocole de CMF qui permettrait de mieux discriminer les patients atteints de lymphopathies T et ainsi de raccourcir le délai diagnostique et par conséquent le délai de prise en charge de ces patients.

V.1. Mise en place du panel TRBC1

V.1.1. Compensations

La mise en place d'un nouveau panel nécessite tout d'abord de choisir précautionneusement les anticorps utilisés. En effet, une des grandes contraintes de la CMF actuelle, qui constitue aussi l'un de ses avantages, est la possibilité de coupler un grand nombre d'anticorps dans un même tube, permettant ainsi de raccourcir le temps de manipulation pour les techniciens mais qui complexifie légèrement la mise en route de nouveaux panels. Ainsi, le choix des anticorps et surtout des fluorochromes associés constitue un point crucial dans l'écriture du protocole. Pour ce panel, le panel T déjà existant (appelé ancien panel dans ce manuscrit et présenté en Annexe 2) a servi de modèle pour arriver au nouveau panel incluant TRBC1 (Annexe 1) ainsi que d'autres marqueurs d'intérêt pour le diagnostic des lymphopathies T et leurs fluorochromes. Une fois le panel mis au point, des tests sur des sujets exempts de lymphopathies T (cinq premiers patients de la cohorte 1) ont été réalisés afin de confirmer le choix des fluorochromes et de définir les compensations à appliquer sur l'automate de CMF. Ceci afin de réduire l'impact des chevauchements des fluorochromes entre-eux et donc limiter les interférences. Ce point fut critique dans le développement de ce nouveau panel car l'utilisation de treize anticorps pour onze couleurs en un seul tube a nécessité un certain temps d'adaptation avant de pouvoir obtenir des images considérées comme convenables pour retraiter et interpréter les résultats. Ensuite, les douze patients restant de la cohorte 1 ont permis de vérifier et d'ajuster les compensations afin d'obtenir des images satisfaisantes.

V.1.2. Situations réactionnelles

Avant de débiter l'utilisation de ce panel en routine, il était nécessaire de s'assurer que les situations réactionnelles comme les viroses, ne se matérialisaient pas également sous la forme d'un déséquilibre d'expression de TRBC1.

Pour cela, la patiente 3 a été analysée. Cette patiente connue pour une suspicion de mononucléose infectieuse (MNI) objectivée par la présence d'une hyperleucocytose associée à une augmentation des monocytes sanguins ainsi qu'à la présence de 20% de lymphocytes activés et d'une légère thrombopénie. Le reste du bilan biologique effectué chez cette patiente montrait également une élévation des transaminases concordant avec une cytolysse hépatique pouvant être retrouvée dans les MNI à EBV de manière transitoire. Un dépistage d'hémopathie lymphoïde T en CMF ainsi qu'une clonalité T en BM ont été ajoutés au bilan afin de confirmer que les situations réactionnelles n'impactaient pas le nouveau protocole TRBC1. Comme le montre la Figure 60, la CMF ne met pas en évidence de population T anormale, l'expression de TRBC1 est équilibrée et aucune expansion des LT $\gamma\delta$ n'est observée. En effet, les LT $\gamma\delta$ peuvent représenter entre 1 et 10% des lymphocytes circulant chez l'adulte et sont généralement double négatifs pour l'expression des marqueurs lymphocytaires T CD4 et CD8 (23).

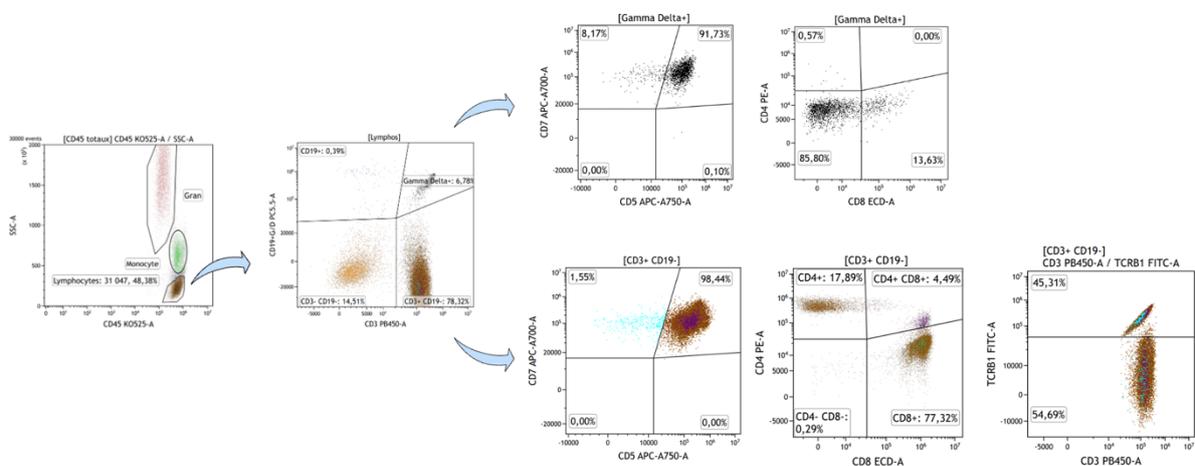


Figure 60 : Résultat du panel TRBC1 en CMF de la patiente 3

V.1.3. Concordance des résultats

Pour finir, cette cohorte 1 d'entraînement a permis d'obtenir des résultats concordants pour la grande majorité des patients que ce soit en faveur de la présence d'une lymphopathie T (patients 7, 9, 10 et 16) soit au contraire, en défaveur d'une lymphopathie T (patients 8, 12, 13 et 15). Le nouveau panel TRBC1 s'est aussi révélé décisif pour trancher quant à l'absence (patients 11 et 14) ou la présence (patient 17) de lymphopathie T. Enfin, concernant le patient 6, le nouveau panel TRBC1 tout comme l'ancien panel, répondent sans ambiguïté sur l'absence de population T anormale contrairement à la BM ou à l'anatomopathologie qui ne parviennent pas à trancher entre le caractère réactionnel ou clonal de la situation et nécessiterait éventuellement de nouvelles explorations si le doute clinique d'un MF subsistait.

V.2. Utilisation du panel en routine

Une fois les dernières modifications appliquées, le panel TRBC1 a pu être utilisé en routine afin de pouvoir le tester en condition réelle de vie au laboratoire. Cette utilisation en routine a permis l'inclusion de cinquante-deux patients du CHU de Limoges et de ses centres hospitaliers périphériques pendant la période d'étude. Pour la grande majorité de ces patients, les résultats obtenus étaient concordants pour confirmer ou non la présence d'une population T tumorale.

Cependant, pour une minorité de patients restants, l'analyse des résultats obtenus a permis, entre autres, de mettre en évidence diverses situations particulières dont certaines nécessitant une attention plus particulière du biologiste.

V.2.1. Résultats discordants avec l'anatomopathologie

L'une des principales causes de discordance entre le panel TRBC1 et l'anatomopathologie est expliquée par la localisation tissulaire exclusive de certaines formes de lymphome. C'est notamment le cas de la patiente 30, chez laquelle un BIA-ALCL a été diagnostiqué uniquement sur la biopsie du sein droit obtenue au moment du retrait de la prothèse mammaire à l'origine du lymphome. En effet, dans cette situation précise, l'immunophénotypage lymphocytaire réalisé à partir d'un prélèvement sanguin (Figure 61) ne permet pas de retrouver les cellules tumorales dont la localisation est exclusivement extra-sanguine. Cependant, l'absence de clone circulant sanguin est tout de même une information pertinente et rassurante pour la prise en charge de la patiente par le clinicien.

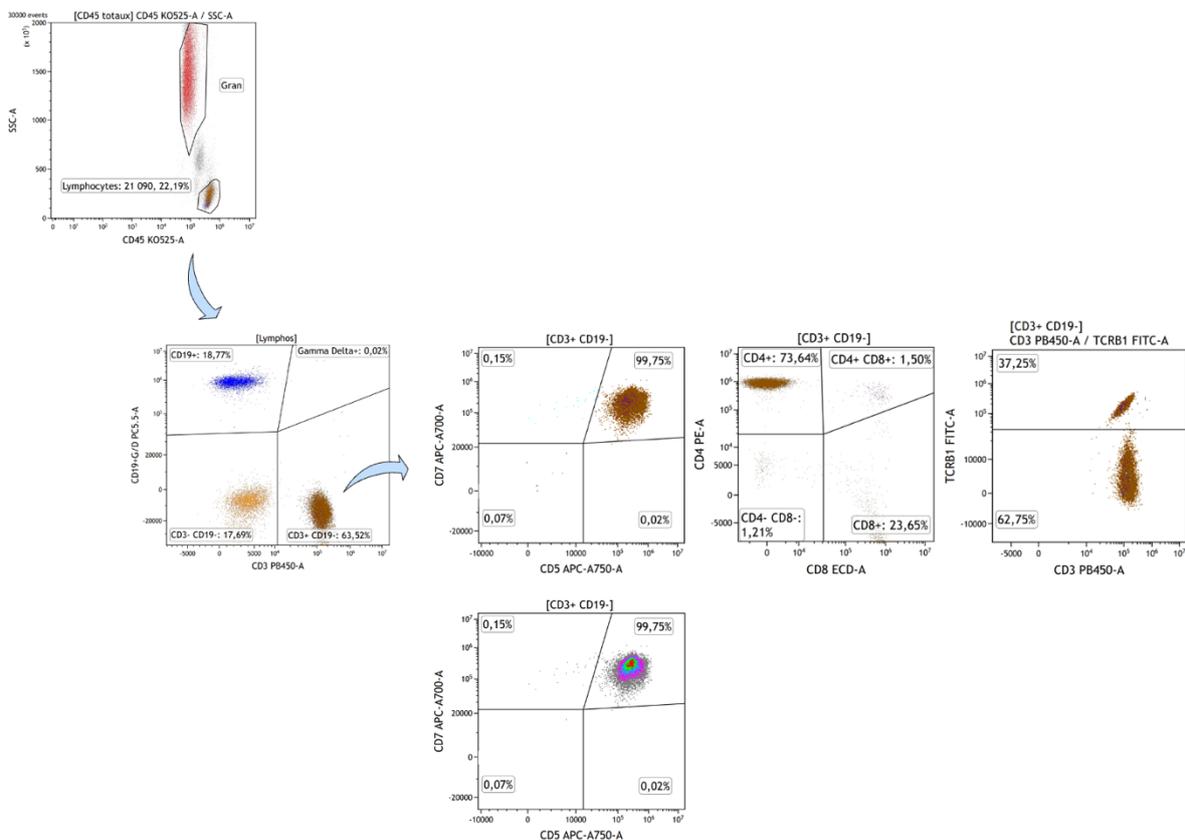


Figure 61 : Résultat du panel TRBC1 en CMF de la patiente 30

De la même manière, des patients présentant des résultats d'anatomopathologie négatifs sur biopsies de peau, dans des SS ou encore des SHE avec variant lymphoïde et d'expression cutanée alors même que la cytométrie et la BM retrouvaient bien un résultat positif ont également été retrouvés. Ce cas de figure, après réflexion, ne semble pas étonnant. En effet, la diversité des formes que peuvent prendre les lésions cutanées rend la sélection de la zone à biopsier complexe. Cette situation a notamment été rencontrée pour le patient 18 dans le cadre d'un bilan étiologique d'hyperéosinophilie.

La CMF a permis de mettre en évidence la présence d'une population T anormale sanguine CD3^{faible}, CD2⁺, CD7⁺, CD5^{faible}, CD8⁺, CD10⁻ et TRBC1 clonal représentant environ 13% des lymphocytes totaux (Figure 62) et dont le caractère clonal a pu être confirmé en BM. Malgré tout, la biopsie cutanée d'une lésion au pli du coude gauche ne permettait de mettre en évidence qu'un infiltrat inflammatoire dermique périvasculaire. Ce cas de figure démontre tout l'intérêt de la CMF qui sera l'examen rendu en premier parmi les autres réalisés, et qui aura permis de mettre rapidement en évidence l'origine lymphomateuse de cette hyperéosinophilie.

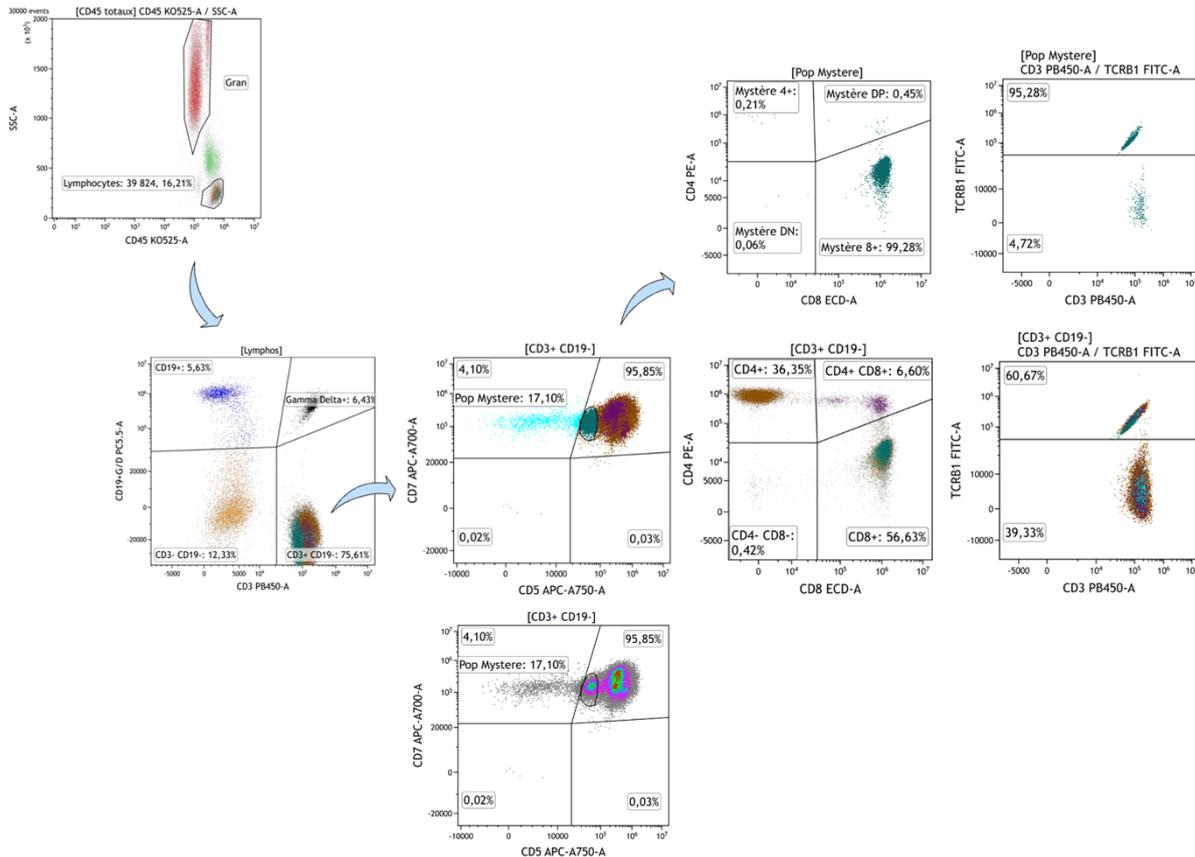


Figure 62 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du patient 18

En conclusion, il est primordial de garder à l'esprit que les prélèvements biopsiques peuvent être très informatifs pour confirmer le diagnostic de lymphome localisé mais, peuvent également être très difficiles à obtenir du fait de certaines localisations parfois très limitées. Les discordances entre les résultats de biopsie et ceux de CMF ou BM dans des matrices plus accessibles sont donc des cas de figure que l'on peut rencontrer. L'importance d'étudier l'ensemble du contexte clinique pour poser ou non un diagnostic de lymphopathie T est primordial.

V.2.2. Résultats discordants avec la BM

Les discordances entre la CMF et la BM résident principalement dans la différence de leurs sensibilités respectives. En effet, la BM étant plus sensible que la CMF, celle-ci permet la détection de plus petits clones sur un même prélèvement analysé. Ceci a notamment pu être observé pour les patients 19 et 67 de la cohorte 2.

Si l'on prend l'exemple du patient 19 chez lequel un SS est suspecté au CH de Brive, l'analyse du prélèvement en CMF (Figure 63) ne permet pas la mise en évidence d'une population T anormale alors que la BM détecte bel et bien un pic monoclonal sur le même prélèvement. Ainsi, la BM étant toujours le *gold standard* en matière de diagnostic des lymphopathies T, ce patient devra être considéré comme pathologique jusqu'à preuve du contraire, en l'absence d'informations cliniques supplémentaires.

Par ailleurs, de nouveaux marqueurs récemment développés en CMF, tel que KIR3DL2 qui semble spécifique des cellules de Sézary, peuvent également être utilisés en complément des techniques actuelles pour confirmer un diagnostic de SS ou bien, dans les cas comme celui-ci trancher quant au caractère clonal d'une population avec une meilleure sensibilité. L'inclusion de ce marqueur au panel TRBC1, ou la création d'un nouveau tube spécifique est à discuter et mérite de plus amples expérimentations au laboratoire, bien que compliquées à mettre en place en l'état, le recrutement de patients Sézary positif au CHU de Limoges étant assez restreint.

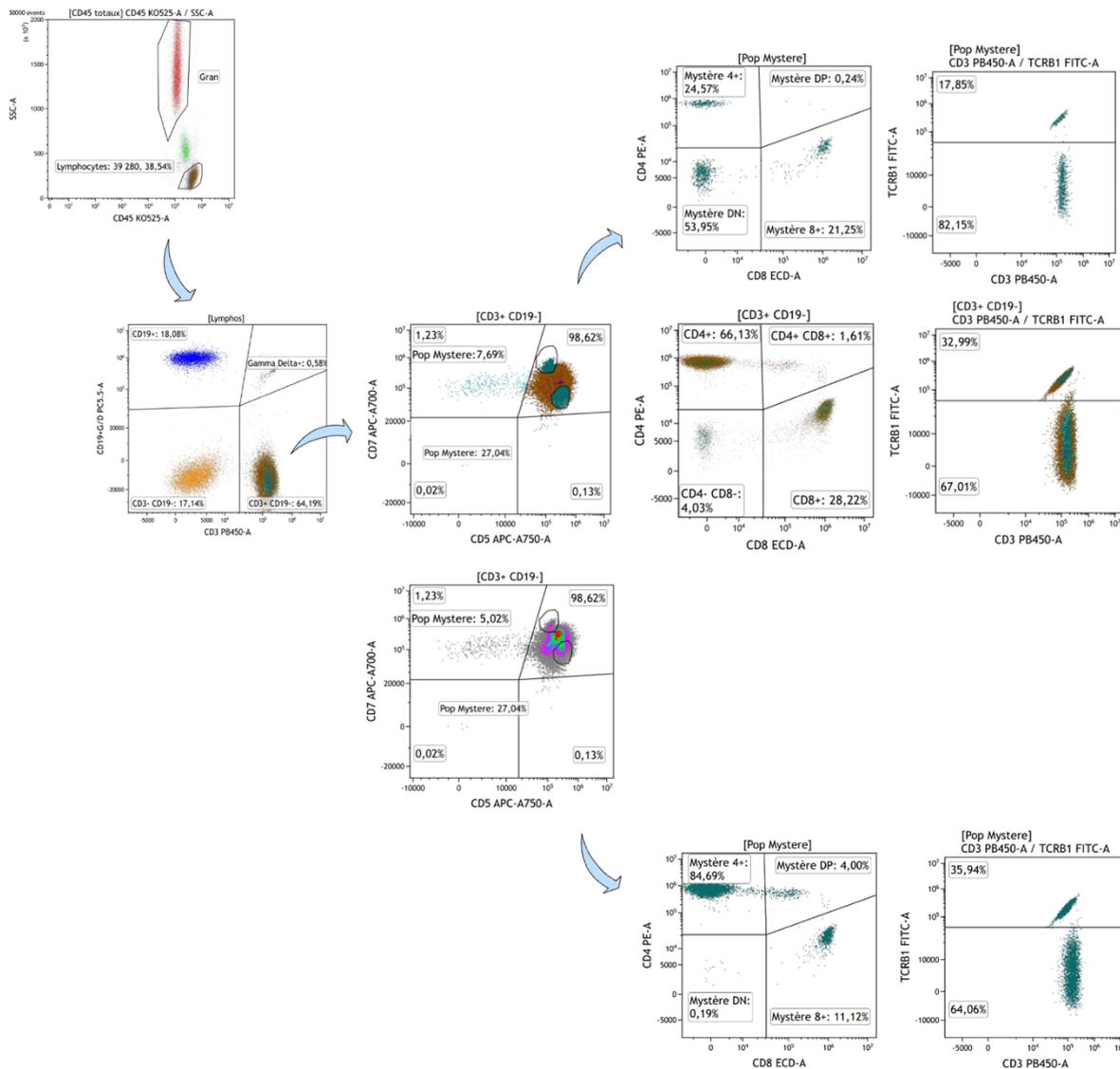


Figure 63 : Résultat du panel TRBC1 en CMF de la patiente 19

Malgré tout, la BM ne permet pas toujours de trancher de façon certaine sur le caractère clonal ou non d'une population. Par exemple, c'est le cas du patient 6, de la cohorte 1, pour lequel la CMF, à la fois sur l'ancien et le nouveau panel, ne permettait pas de mettre en évidence de population T anormale. De même, la BM retrouvait un profil polyclonal irrégulier comportant de rares pics d'intensité relativement faible, ne permettant pas de répondre clairement à la question posée par le clinicien. Dans ce type de situation, en fonction de la suspicion clinique, il sera fortement conseillé de reconstrôler sur un prélèvement à distance, les résultats rendus.

V.2.3. Population CD7⁺CD5⁻

Chez trois patients de la cohorte 2 (patients 36, 38 et 39), l'analyse des données obtenues grâce au panel TRBC1 a permis de mettre en évidence la présence d'une population T suspecte devant nécessiter une grande précaution. Au cours du développement du panel TRBC1, la présence de quelques cellules éparses se localisant fréquemment en CD7⁺CD5⁻ et possédant une expression déséquilibrée de TRBC1 a été constatée. Cependant, la seule expression hétérogène de TBRC1 ne permet pas à elle seule d'établir le diagnostic de lymphopathie T. Il faut également que l'ensemble des cellules présentes constituent une groupement ou cluster d'un certain nombre de cellules pour envisager ce diagnostic.

En effet, dans la première cohorte, certains patients, et notamment la patiente 12, âgé de 75 ans, pouvaient posséder une petite population très éparse CD7⁺CD5⁻ généralement, d'environ 200 cellules ou moins, non NK exprimant exclusivement le CD8 et présentant un déséquilibre de TRBC1 (Figure 64) sans pour autant que la pathogénicité de cette population ne soit confirmée en BM.

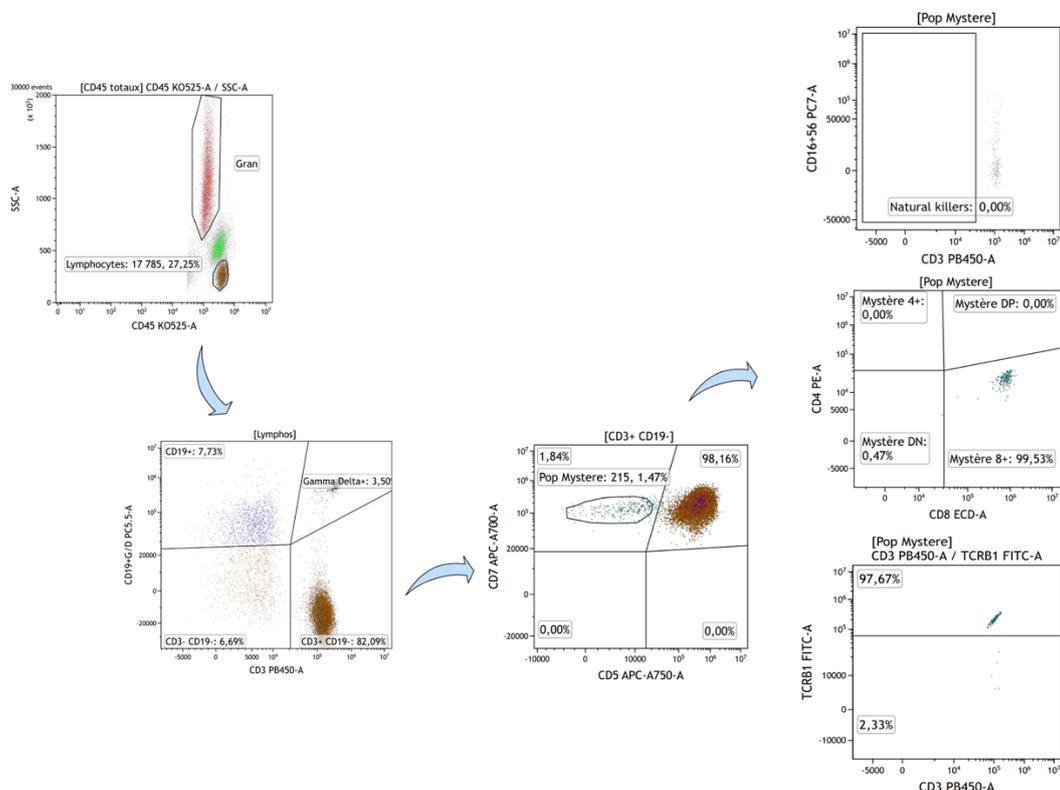


Figure 64 : Résultat du panel TRBC1 en CMF de la patiente 12

Dans la littérature, la présence d'une telle population exprimant exclusivement le CD8 a également été décrite comme correspondant à une population physiologique de LT cytotoxiques effecteurs ou mémoires produits en réponse à des *stimuli* extérieurs (infections, cancers, présence d'antigènes...). Ce type de population serait présente aussi bien chez les sujets jeunes que chez les sujets âgés avec une tendance à l'augmentation chez ces derniers (82). Néanmoins, la présence d'une véritable population clonale n'est pas à écarter systématiquement pour autant. De fait, ce cas de figure a été retrouvé chez le patient 39 (Figure 65) âgé de 66 ans, suivi pour une T-LGLL et chez lequel cette population $CD7^+CD5^-$, non NK exprimait quand même le CD16/CD56 comme cela est parfois le cas dans les T-LGLL. De plus, cette population représentant 1% des lymphocytes totaux exprimait exclusivement le CD8 avec un déséquilibre de TRBC1. Dans cet exemple, la BM avait ainsi permis de confirmer le caractère clonal de cette population.

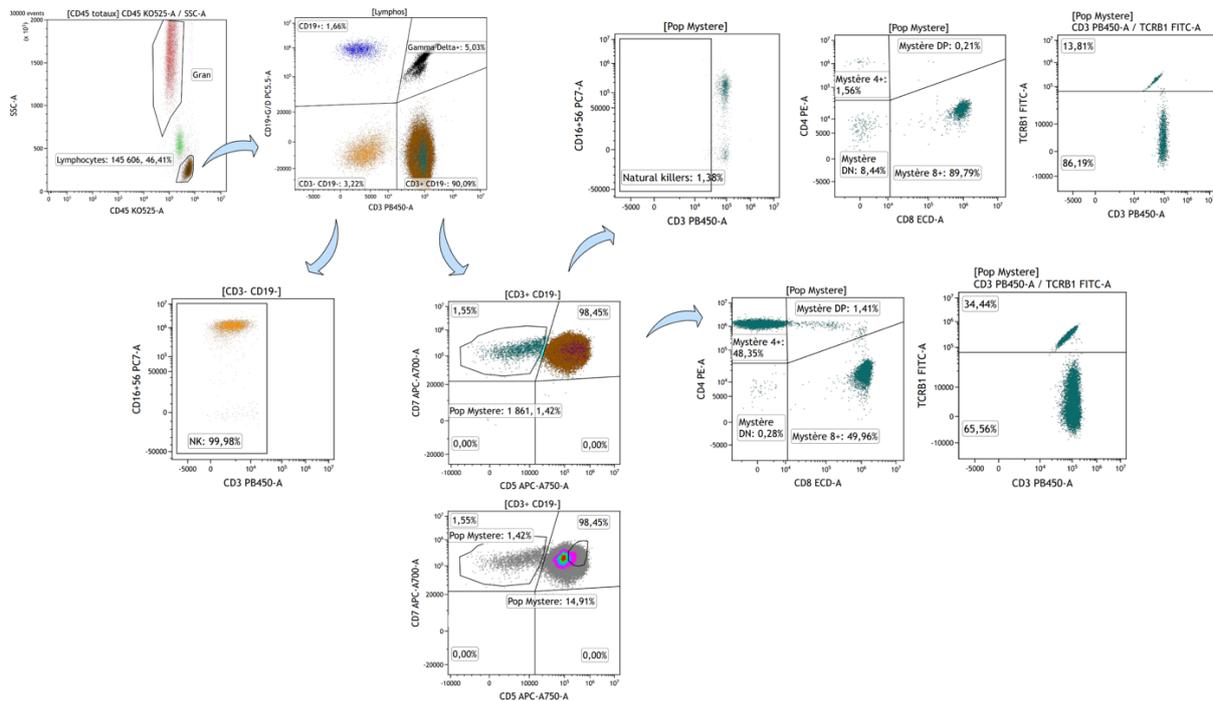


Figure 65 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du patient 39

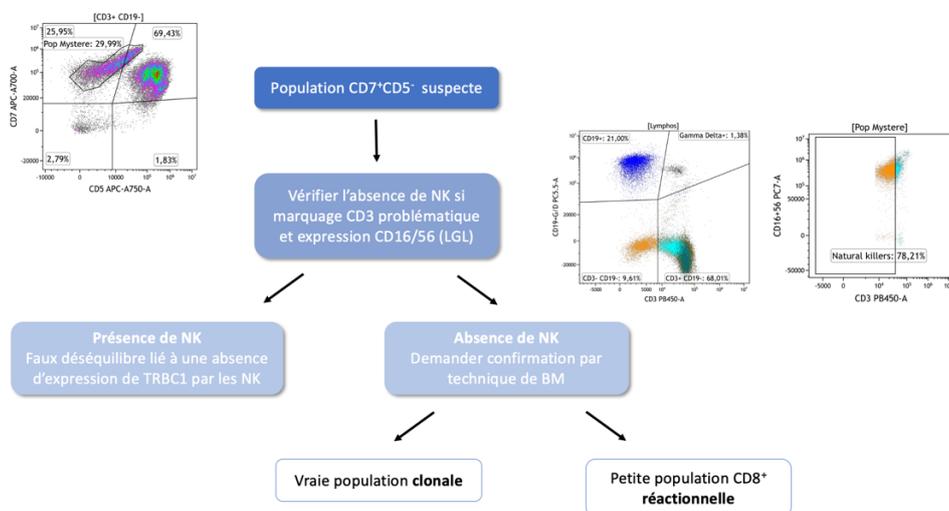


Figure 66 : Arbre décisionnel pour la population $CD7^+CD5^-$

Ainsi, afin de ne pas négliger ou incriminer à tort cette population, un arbre décisionnel (Figure 66) visant à confirmer ou non le caractère clonal de la population suspecte a été imaginé. Pour cela, il est tout d'abord nécessaire de vérifier l'absence de cellules NK dans cette population grâce à la fenêtre CD3 et CD16/CD56, dans le cas où la distinction entre les cellules CD3⁺ et celles CD3⁻ n'est pas évidente. Le cas échéant, cela induirait un faux déséquilibre de TRBC1 du fait de son absence d'expression par ces cellules (6). De plus, un tel fenêtrage permet aussi de distinguer des LT CD3⁺ qui exprimeraient également le CD16/CD56, possible dans les LGLL. Ensuite, si l'absence de NK est confirmée, il sera recommandé de demander l'ajout d'une clonalité T en BM pour trancher sur le caractère clonal ou non de la population suspecte.

V.2.4. Population CD3⁻

La seconde population particulière rencontrée au cours de la mise au point du panel TRBC1 correspond à la présence d'une population T anormale ayant perdu l'expression du marqueur pan-T, CD3. Cette population a pu être détectée chez la patiente 27 grâce à la fenêtre habituellement utilisée pour identifier les NK. Dans le cas présent, la population notée V en rose sur la Figure 67 a perdu l'expression du CD3 mais elle exprime toujours le CD5, CD7, CD2 et CD4 confirmant leur origine lymphocytaire T et non NK. De plus, cette population ainsi mise en évidence à hauteur de 0,45% des lymphocytes totaux, pour le suivi de cette patiente atteinte d'un AITL, présente un déséquilibre de TRBC1 majeur.

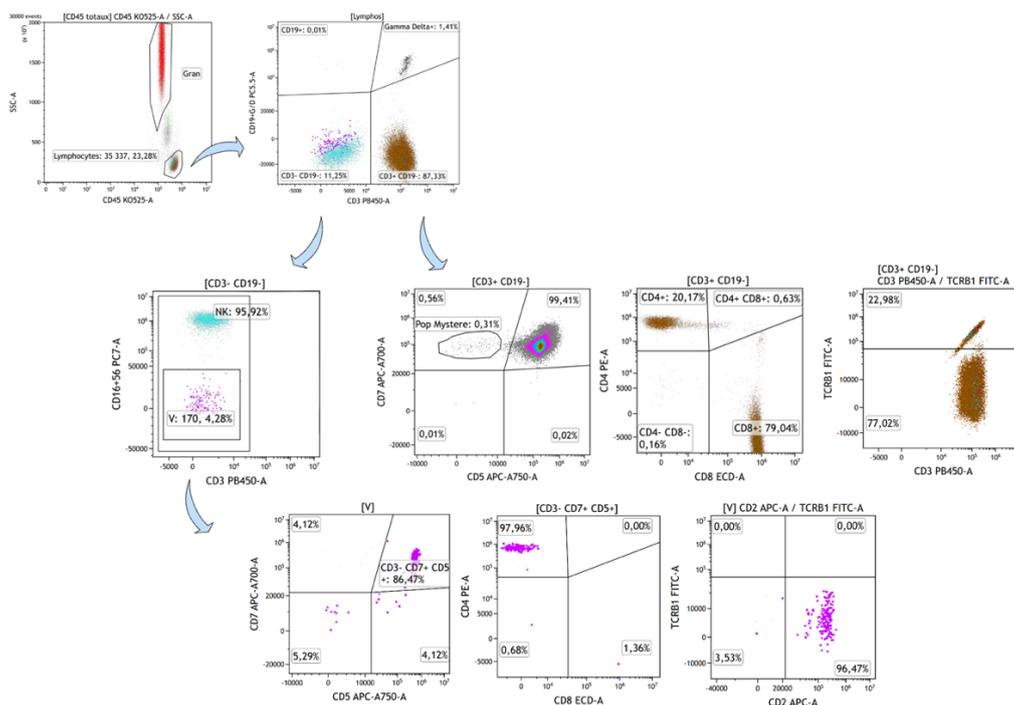


Figure 67 : Résultat du panel TRBC1 en CMF de la patiente 27

Néanmoins, les données actuelles de la littérature sur le sujet semblent converger vers une absence d'expression à la fois de TRBC1 mais également de TRBC2, par les LT CD3⁻ comme les LB, NK et les LT $\gamma\delta$, que ce soit les thymocytes bénins, les LT CD3⁻ néoplasiques (matures ou immatures) ou encore les LT CD3⁻ réactionnels (76-77). Bien que la cause de cette diminution d'expression reste encore indéterminée, certaines hypothèses seraient en faveur d'une diminution de l'expression du TCR causée par la diminution de l'expression du CD3 (80).

Ainsi, ce type de population anormale ne peut pas, actuellement, être simplement détectée et/ou suivi grâce au panel TRBC1 actuel. Cependant, des études sont en cours au sein de la *Mayo Clinic*, pour déterminer si la détection par CMF du TRBC1 intra-cellulaire serait capable ou non de distinguer les thymocytes bénins des lymphomes et/ou leucémies lymphoblastiques T ayant perdu l'expression du CD3 (82). Ains, il sera recommandé, dans ce cas de figure, tout comme précédemment, d'ajouter une recherche de clonalité par BM pour confirmer ou non le caractère tumoral de cette population.

V.2.5. Suivi particulier

Dans certaines situations, et notamment dans le cadre du suivi post-greffe, le panel TRBC1 développé se retrouve mis à mal. En effet, suite à une allogreffe de CSH chez les patients atteints de T-PLL par exemple, la reconstitution du répertoire lymphocytaire T et de sa diversité, pourra prendre plusieurs années, soit entre 2 et 7 ans en fonction des patients (83) (84). Par ailleurs, il a été démontré qu'au cours de cette reconstitution, l'allogreffe en elle-même possédait un rôle contre la leucémie qui ne semblait pas être médiée par la génération d'un clone émergeant contre la T-PLL mais plutôt d'une réponse poly- ou oligoclonale (85). Ceci complexifie donc le suivi de la réponse au traitement par des techniques moins sensibles que le NGS. Ainsi, ce type de patient est actuellement suivi au CHU de Limoges grâce à l'étude du répertoire T par identification et suivi des réarrangements clonaux des gènes du TCR γ par des techniques de NGS.

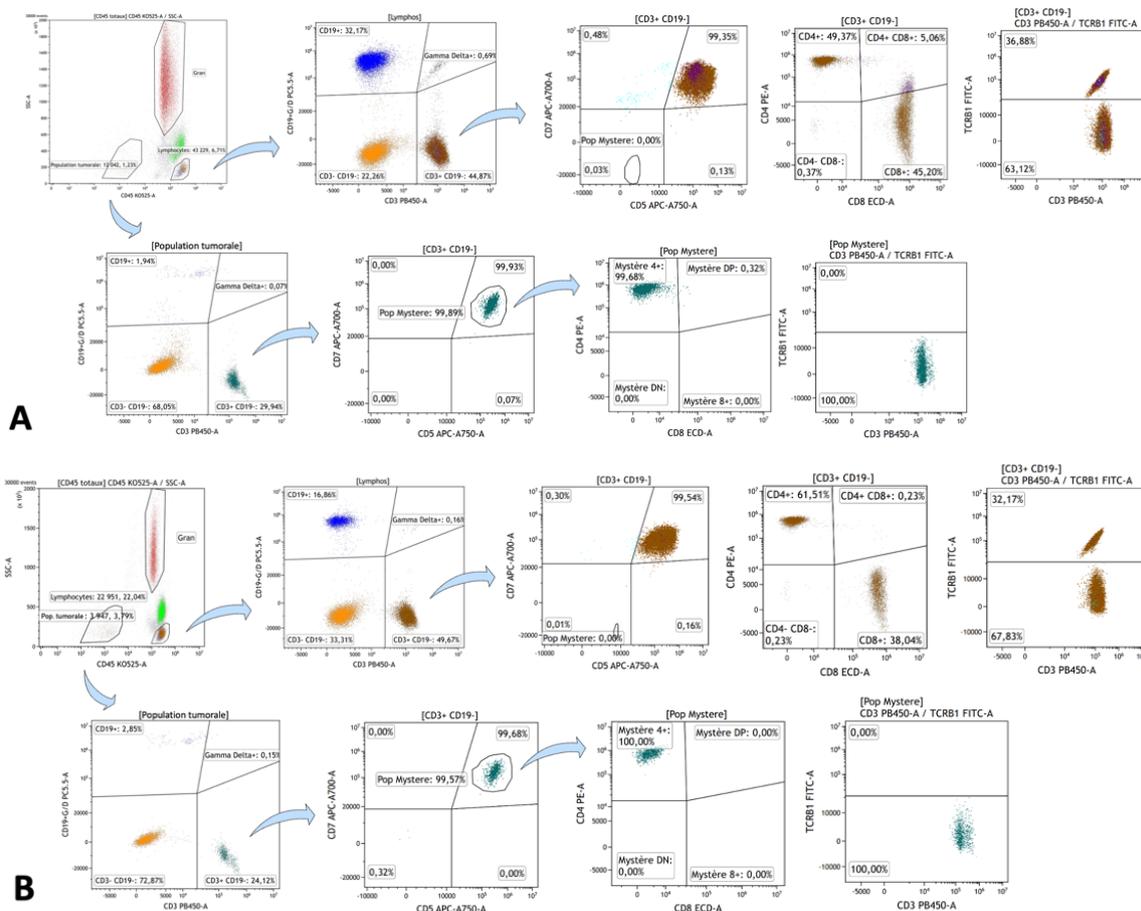


Figure 68 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du patient 10

A : prélèvement médullaire
B : prélèvement sanguin

C'est le cas par exemple d'un patient suivi pour un T-PLL diagnostiqué en 2020 et en rémission complète suite à une allogreffe en 2020 également, que l'on retrouve à trois reprises dans cette étude avec les prélèvements 10 (cohorte 1), 22 et 49 (cohorte 2).

Dans la cohorte 1, une persistance dans le sang et dans la MO du clone $CD45^{\text{faible}}$, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD5^+$, $CD7^+$, précédemment connu, était retrouvée en CMF à la fois sur l'ancien et le nouveau panel avec un déséquilibre franc du TRBC1 (Figure 68). En accord avec ce résultat, l'étude du répertoire T en NGS détectait la présence des deux clones connus au diagnostic (Figure 69).



Figure 69 : Résultat du répertoire T en NGS sur le prélèvement médullaire du patient 10
Point rouge et bleu : clones connus au diagnostic

A l'inverse, sur un prélèvement effectué cinq mois plus tard et figurant dans la cohorte 2, le clone connu au diagnostic n'a pas été retrouvé en CMF (Figure 70). Cependant, trois populations distinctes ont pu être isolées :

- La première représentant environ 30% des cellules $CD3^+CD19^-$. Par la suite, cette population a été identifiée comme correspondant majoritairement à des cellules NK grâce à la stratégie décrite précédemment car un continuum de cellule ne permettait pas une séparation nette des cellules $CD3^+$ et $CD3^-$.
- La deuxième population représentant 20% des cellules $CD3^+CD19^-$ et exprimant le CD7, faiblement le CD5 et majoritairement le CD8 avec un déséquilibre du TRBC1.
- La dernière population, représentant 13% des cellules $CD3^+CD19^-$ et exprimant le CD5, faiblement le CD7 et pour une moitié des cellules le CD4 et pour l'autre le CD8 sans un déséquilibre du TRBC1.

Dans ce cas précis, il est donc difficile de conclure quant au contexte réactionnel ou clonal du prélèvement seulement avec les résultats de cytométrie.

En parallèle, une étude du répertoire T en NGS (Figure 71) a également été effectuée permettant de trancher entre la situation réactionnelle ou clonale chez ce patient. Ainsi, la technique de NGS ne retrouve pas les 2 clones connus au diagnostic et ne met en évidence que la présence de clones observés est probablement secondaire à la reconstitution T et non pas à une rechute du patient avec un nouveau clone.

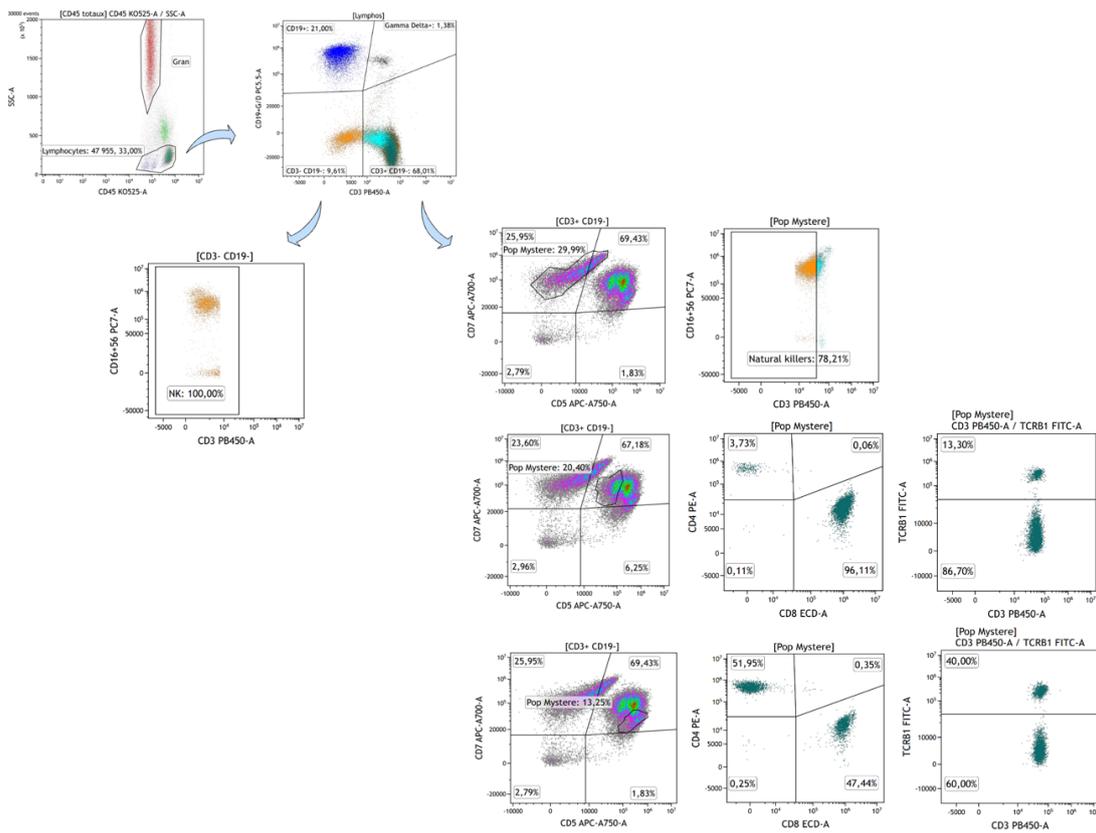


Figure 70 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du patient 10 dans la cohorte 2

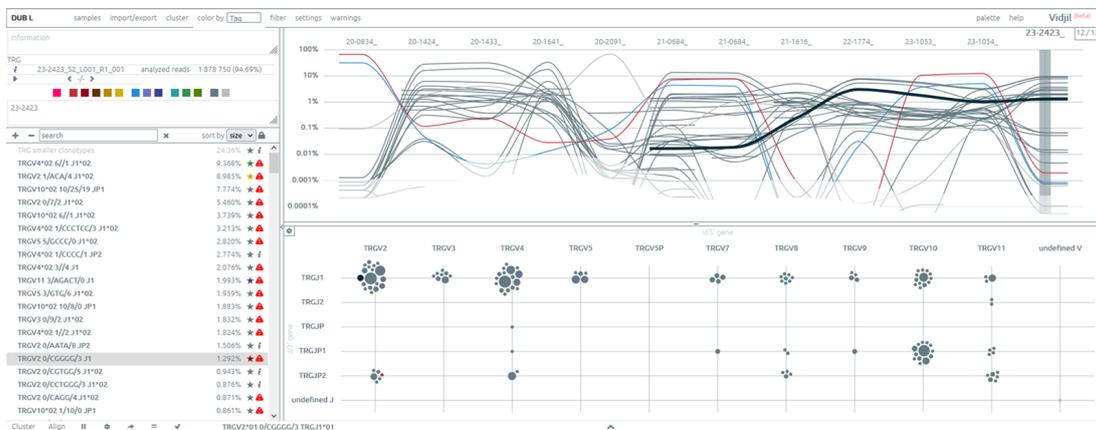


Figure 71 : Résultat du répertoire T en NGS du patient 10

Il est ainsi nécessaire d'ajouter aux techniques de cytométrie et de recherche de clonalité T, une technique plus sensible comme le NGS dans des situations post-greffe pour distinguer le caractère réactionnel post-greffe d'une situation de rechute avec un véritable clone.

V.2.6. Résultats discordants et/ou ambigus

Au cours du retraitement des données, certains résultats ambigus ont particulièrement retenu notre attention. C'est le cas du patient 21, suivi pour une hyperéosinophilie avec population lymphocytaire T anormale sans atteinte d'organe, non traité. Le diagnostic avait été établi en 2021 par la mise en évidence d'une population CD7⁺, CD5^{faible}, CD3⁺, CD4⁺ représentant moins de 1% des lymphocytes totaux sans clonalité T objectivée en BM.

Sur le prélèvement recueilli au cours de la période d'étude, la CMF ne met pas en évidence de déséquilibre majeur mais identifie la présence d'une petite population de 126 cellules CD7⁺, CD5⁻, CD8⁺ avec un TRBC1 clonal, différente de la population au diagnostic (Figure 72). De son côté, l'analyse par BM a rendu la présence d'un pic monoclonal faible dans un contexte polyclonal (Figure 73) qui pourrait être rediscuté car la différence entre la présence d'un faible pic monoclonal dans un contexte polyclonal et le caractère oligoclonal d'un prélèvement n'est pas toujours aussi tranchée.

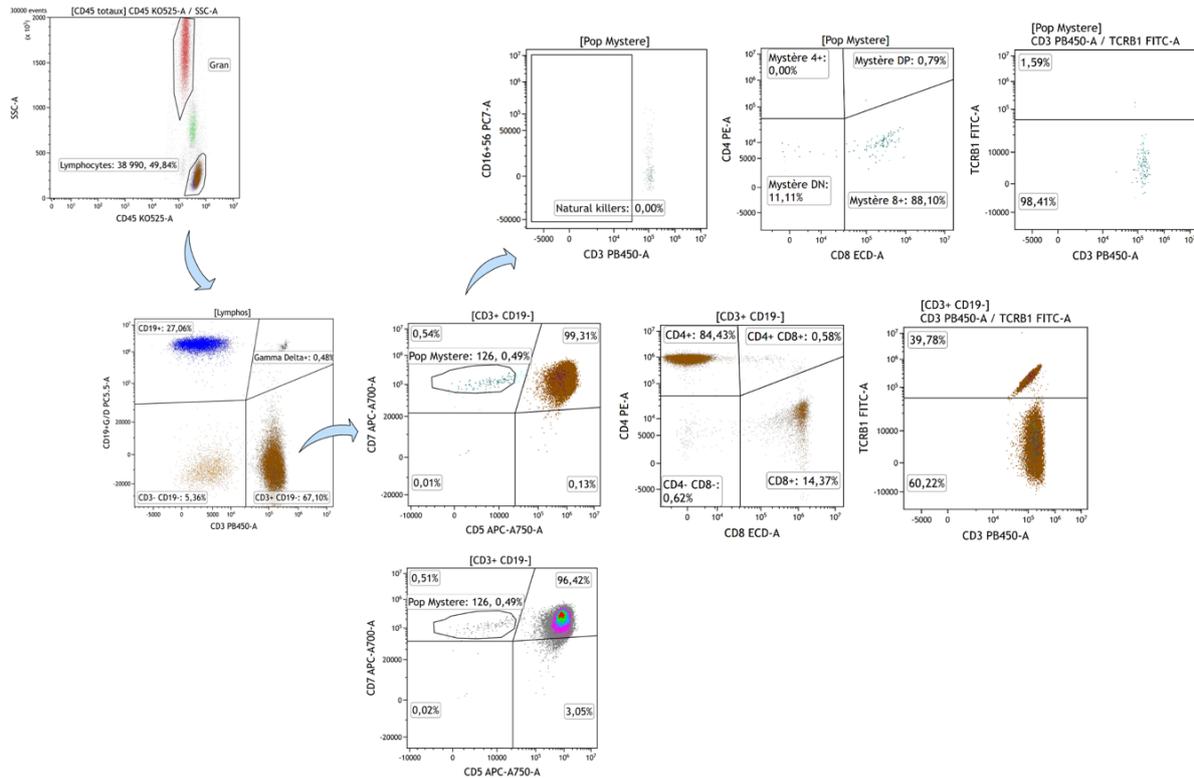


Figure 72 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du patient 21

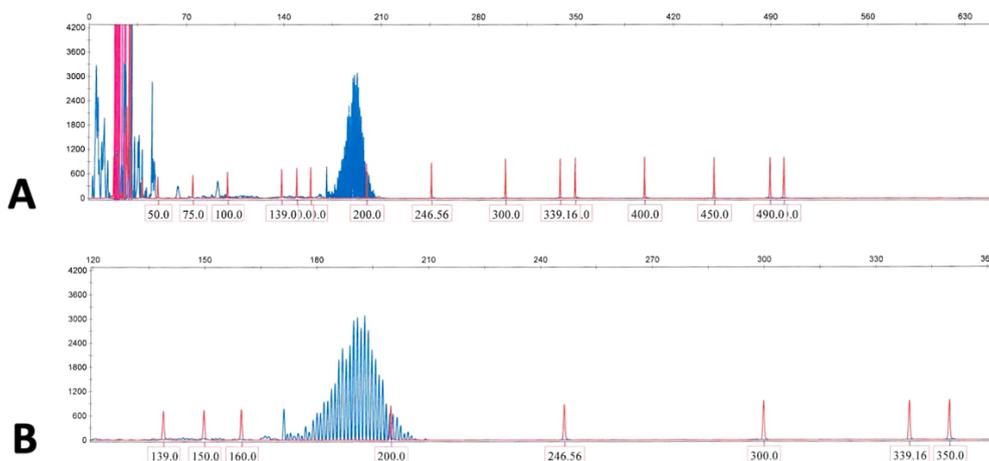


Figure 73 : Résultats de clonalité T en BM du prélèvement médullaire du patient 21

- A** : pic monoclonal faible et la présence d'une population polyclonale
- B** : zoom de la zone aux alentours de 200 paires de bases (pdb) suspecte

Par ailleurs, les mêmes constatations ont été observées pour le prélèvement 49. En effet, l'analyse en CMF ne permet pas de mettre en évidence la présence d'une population T anormale (Figure 74) tandis que la BM détecte la présence d'un pic monoclonal parmi un profil polyclonal qui pourrait éventuellement, après une seconde analyse, être lui aussi requalifié d'oligoclonal au vu de la taille et de la localisation du pic (Figure 75).

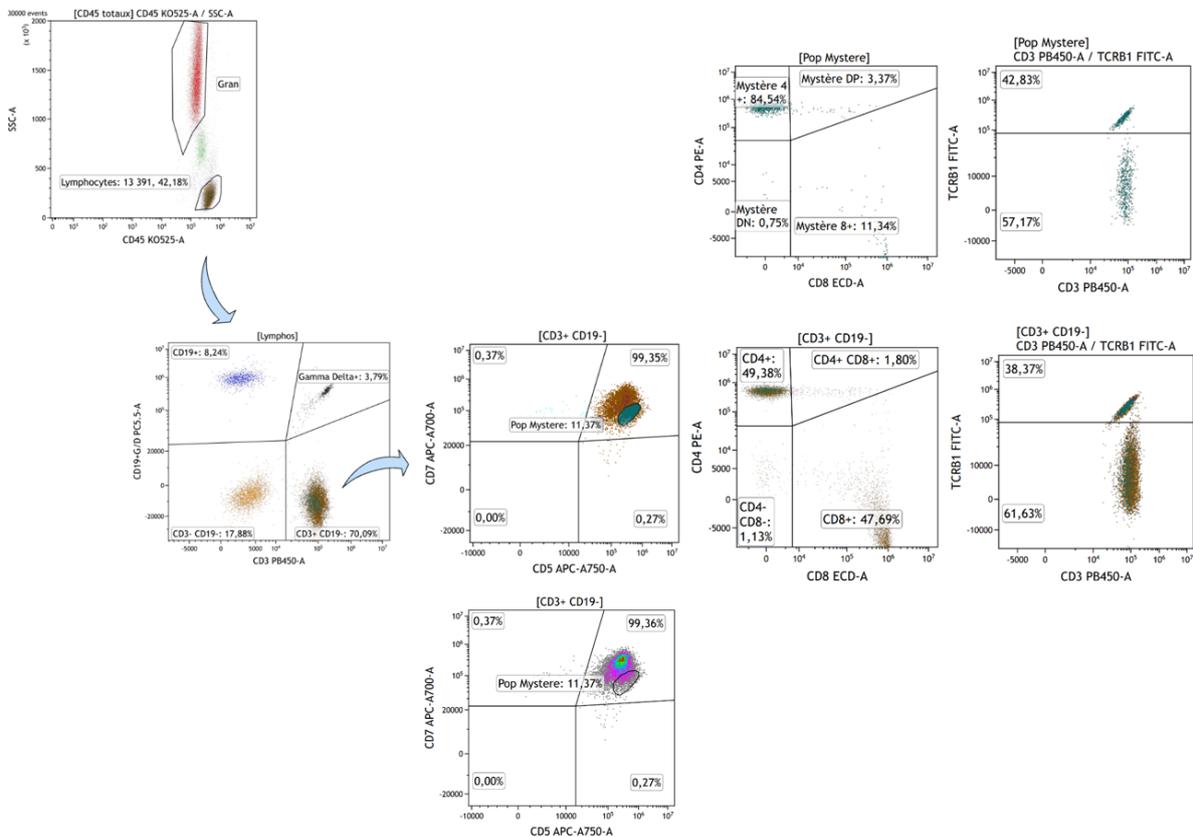


Figure 74 : Résultat du panel TRBC1 en CMF du patient 49

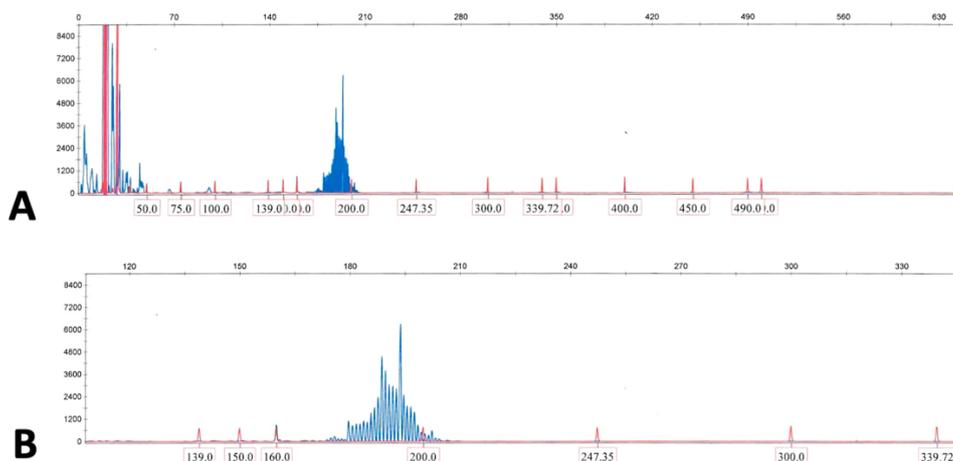


Figure 75 : Résultats de clonalité T en BM du patient 49

- A** : pic monoclonal faible et la présence d'une population polyclonale ou oligoclonal
- B** : zoom de la zone aux alentours de 200 paires de bases (pdb) suspecte

De façon contemporaine au prélèvement sanguin, chez ce patient, plusieurs biopsies ont été effectuées et analysées en anatomopathologie retrouvant la présence d'un infiltrat lymphocytaire pilotrope de phénotype T CD4⁺ faisant discuter le diagnostic de MF pour la biopsie du haut du dos alors que la biopsie du mollet droit reste dans les limites de la normale. Ainsi, il sera nécessaire, comme indiqué précédemment, de contrôler ces résultats à distance afin de ne pas méconnaître la présence d'une population clonale anormale chez ces patients présentant des résultats incertains.

V.2.7. Valeurs seuils

Après avoir démontré que le nouveau panel de CMF avait toute sa place dans l'orientation diagnostique des syndromes lymphoprolifératifs T, les seuils définis dans la littérature ont été questionnés. En effet, la grande majorité des équipes de recherche dans ce domaine utilisent les valeurs seuils fixés par une équipe nord-américaine de la *Mayo Clinic* comme devant être > 85% ou < 15% en terme d'expression de TRBC1 dans le sang mais aussi dans la MO (6) pour conclure quant à la présence d'un syndrome lymphoprolifératif ou non. Ainsi, pour la mise en place et surtout pour l'interprétation de ce nouveau panel TRBC1, ces seuils d'expression de TRBC1 ont également été utilisés pour analyser les patients du CHU de Limoges.

A partir des données croisées de CMF, de BM mais aussi des informations cliniques disponibles, une vérification de la pertinence des seuils fixés a été effectuée afin de s'assurer de leur efficacité en routine. Pour cela, un tableau de contingence a été établi en tenant uniquement compte des prélèvements pour lesquels la méthode à l'étude et la BM étaient conjointement disponibles sous la forme de résultat « positif » ou « négatif » (Tableau 21).

Tableau 21 : Tableau de contingence CMF TRBC1 vs. BM des résultats bruts

Méthodes étudiées		CMF TRBC1		
		Positif	Négatif	Total
BM	Positif	VP = 12	FN = 2	14
	Négatif	FP = 0	VN = 21	21
	Total	12	23	35

VP : vrais positifs ; **FN** : faux négatifs ; **FP** : faux positifs ; **VN** : vrais négatifs

La sensibilité (Se) et la spécificité (Spe) ont pu être calculées à l'aide des formules suivantes :

$$Se = \frac{VP}{VP+FN} \qquad Spe = \frac{VN}{VN+FP}$$

Les valeurs de Se et Spe pour l'ensemble de nos deux cohortes étaient de 86% pour la Se et de 100% pour la Spe. Cela signifie que le panel TRBC1 de CMF peu méconnaître certains patients présentant une BM positive cependant, il n'a pas conclu, au cours de cette étude, à affirmer à tort, la présence d'une population suspecte. Ces conclusions ne sont pas vraiment surprenantes car, comme abordé précédemment, la sensibilité de la CMF est moins bonne sur des petits clones que celle de la BM. Afin de se rapprocher un peu plus des Se et Spe proches de 100% retrouvées dans la littérature (6) (25) (83), il sera nécessaire de poursuivre ces analyses pour déterminer si l'ajout d'une zone grise déclenchant l'analyse par BM du prélèvement permettrait de détecter ces patients et ainsi de réduire le nombre de FN.

Par ailleurs, une courbe ROC (*Receiving Operator Characteristic*) a également été générée à partir des cohortes 1 et 2. Comme le démontre la Figure 76, le point sur la courbe permettant l'obtention des meilleures performances correspond aux valeurs seuil comprises entre 10-15% d'expression de TRBC1, en accord avec les résultats précédemment trouvés dans la littérature. Pour finir, la somme de nos aires sous la courbe (AUC) étant de 0,998, soit proche de 1, ce test présente une très bonne capacité à discriminer les patients pathologiques des patients non pathologiques.

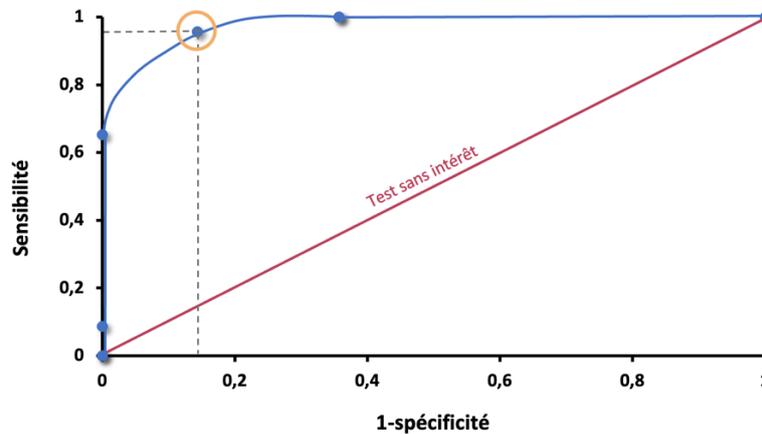


Figure 76 : Courbe ROC

Néanmoins, si les résultats de CMF ne sont pas francs, et en cas de doute ou de forte suspicion clinique et/ou cytologique, l'ajout d'une analyse par BM peut être nécessaire et justifiée d'autant plus si le déséquilibre observé se situe à la limite des valeurs seuil fixées. Des études complémentaires seraient intéressantes pour fixer avec précision les limites de cette zone grise.

Ensuite, par souci de vérification des données obtenues, les pourcentages d'expression de TRBC1 par les LT CD4⁺ et CD8⁺ chez les sujets exempts de syndrome lymphoprolifératif consignés dans les cohortes 1 et 2 aux valeurs décrites dans la littérature (Tableau 22) ont été comparés. Pour cela, il a été nécessaire de calculer la moyenne, l'écart-type et l'intervalle de confiance (IC) à 95% du pourcentage d'expression de TRBC1 par les LT CD4⁺ et les CD8⁺. Après fusion des résultats obtenus dans nos 2 cohortes, la moyenne d'expression de TRBC1 par les LT CD4⁺ était de 44,23% ± 4,48 avec un IC à 95% compris entre 42,81% et 45,66% alors que la moyenne d'expression de TRBC1 par les LT CD8⁺ était légèrement inférieure puisqu'elle était de 38,34% ± 10,75 avec un IC à 95% compris entre 34,92% et 41,76% (Figure 77).

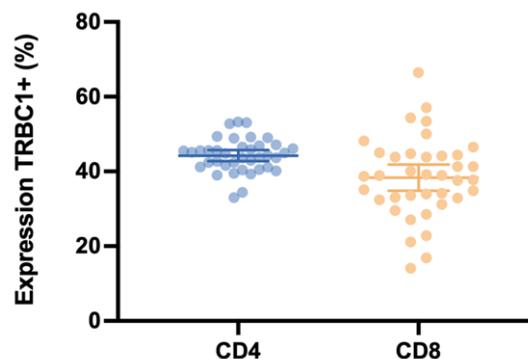


Figure 77 : Dot plot de l'expression de TRBC1 par les LT CD4⁺ et CD8⁺

Tableau 22 : Tableau des pourcentage d'expression de TRBC1 par les LT CD4⁺ et CD8⁺

Références	Valeurs retrouvées dans la littérature		
Novikov et al. (7)	CD4 (n=39)	Moyenne ± écart-type	44 ± 4,3
		Intervalle de confiance à 95%	36-53
	CD8 (n=39)	Moyenne ± écart-type	39 ± 11
		Intervalle de confiance à 95%	18-61
Shi et al. (74)	CD4 (n=44)	Moyenne ± écart-type	46 ± 6,8
		Intervalle de confiance à 95%	
	CD8 (n=35)	Moyenne ± écart-type	37 ± 10
		Intervalle de confiance à 95%	
Berg et al. (6)	CD4 (n=97)	Moyenne ± écart-type	43,4 (écart-type non mentionné)
		Intervalle de confiance à 95%	36-51
	CD8 (n=97)	Moyenne ± écart-type	37,9 (écart-type non mentionné)
		Intervalle de confiance à 95%	27-51
Muñoz-García et al. (8)	CD4 (n=83)	Moyenne ± écart-type	43 ± 6,3
		Intervalle de confiance à 95%	
	CD8 (n=83)	Moyenne ± écart-type	35 ± 8,8
		Intervalle de confiance à 95%	

En conclusion, les valeurs obtenues au CHU de Limoges sont comparables à celles retrouvées dans la littérature.

V.2.8. Utilisation du panel par les différents opérateurs

Après interrogation des différents utilisateurs de ce panel, que ce soient les techniciens (Tableau 23) de laboratoire qui analysent en première intention les données obtenues, ou les biologistes (Tableau 24) qui retraitent et rendent les résultats aux cliniciens, ce panel s'est révélé plus simple d'utilisation et plus informatif que le précédent.

Tableau 23 : Tableau des avis des techniciens sur le nouveau panel

Opérateur	Évaluation du panel TRBC1
Technicien 1	<i>En ce qui me concerne, je peux dire que je suis très satisfait de cet anticorps. En effet, le TRBC1 nous permet de lever le doute sur le fait d'avoir un clone T ou non sur une population CD4 ou CD8 majoritaire. Il est l'équivalent des chaînes Kappa/Lambda que l'on retrouve sur une recherche d'hémopathie lymphoïde B. Néanmoins, il reste ininterprétable sur les cellules NK ainsi que sur les $\gamma\delta$ étant donné que ces deux populations n'expriment pas le TRBC1.</i>
Technicien 2	<i>D'un point de vue pratique, je trouve confortable d'avoir le TRBC1 dans le panel de première intention. Il nous permet d'identifier et de séparer des populations clonales beaucoup plus facilement qu'auparavant ; grâce notamment à la stratégie de fenêtrage basée sur la population mystère « adaptable » à chaque cas.</i>
Technicien 3	<i>Le TRBC1 permet de repérer de manière rapide et sans doute, une population T anormale. Associé au fenêtrage d'une population mystère modulable, il permet également d'identifier une population clonale minime noyée dans la population normale</i>
Technicien 4	<i>Cet anticorps est un gros apport dans notre stratégie de détection d'un clone T en vérifiant rapidement l'expression du TRBC1 sur les populations suspectes. Il offre ainsi la possibilité de détecter des clones même minimes au sein de population saine. La question se pose quant à l'intégration de ce marqueur sur un panel d'orientation B et T.</i>

Tableau 24 : Tableau des avis des biologistes sur le nouveau panel

Opérateur	Évaluation du panel TRBC1
Biologiste 1	<p><i>Globalement très satisfaisante, cette addition au panel T est d'une aide précieuse lorsqu'il n'y a pas de phénotype aberrant évident. Il permet ainsi de réduire les incertitudes par rapport à l'ancien panel malgré le fait qu'il existe toujours des cas borderline nécessitant d'avoir recours à la biologie moléculaire pour trancher. Cependant, la limitation sur les population NK et $\gamma\delta$ est toujours présente du fait de leur absence d'expression de ce marqueur.</i></p>
Biologiste 2	<p><i>Ce nouveau panel est une aide pour répondre si absence de clone (ratio CD4/CD8 normal et pas de trou phénotypique) et présumer de la clonalité d'une population (à confronter à la BM systématique). La modification du panel T initial à, de plus, entrainer une augmentation des demandes de la part des cliniciens témoignant ainsi, de son nouveau rôle dans le diagnostic des lymphopathies T. Malgré tous, au moindre doute ou interrogation la BM reste l'examen de référence notamment pour repérer les clones de petite taille.</i></p>
Biologiste 3	<p><i>L'inclusion du TRBC1 est un apport majeur au panel T. C'est un complément très précieux au diagnostic des hémopathies et à la stratégie de fenêtrage basée sur la notion de population mystère. C'est même indispensable dans les cas où il n'existe pas de phénotype aberrant (T-PLL sCD3⁺ par exemple). L'interprétation est en général simple. Il reste quelques cas où se pose la question des seuils (85-15) et où le recours à la clonalité en biologie moléculaire reste nécessaire.</i></p>
Biologiste 4	<p><i>Je trouve que le panel incluant TRBC1 permet de lever pas mal de doutes sur certaines populations ou certaines anomalies que l'on retrouvait auparavant sur le panel T et que l'on aurait tendance à signaler pour ne pas méconnaître un clone. Je pense par exemple aux déséquilibres CD4/CD8 qui peuvent être de simple déséquilibre ou véritable clone sous-jacent mais également aux sous-populations visibles sur le diagramme CD7/CD5 conditionné sur les CD3⁺ pouvant correspondre à des sous-population T qui expriment différemment ces marqueurs ou à un véritable clone ?</i></p> <p><i>Il nécessite par contre un retraitement systématique avant validation, pour pouvoir déplacer la population mystère à notre guise mais je ne pense pas que cela nous fasse perdre du temps, bien au contraire. Évidemment et en cas de doute, la clonalité T est incontournable. Ce travail aura permis de relever les situations dans lesquelles le biologiste doit être alerte.</i></p>

Ainsi, les informations apportées par ce nouveau panel et le travail d'interprétation et de discussion des résultats obtenus sont désormais des éléments clés dans la validation biologique des immunophénotypages T au laboratoire d'hématologie du CHU de Limoges.

Conclusion

Le diagnostic des lymphopathies T n'est pas chose facile en pratique courante. En effet, la rareté de ces entités implique un savoir faire des opérateurs à chaque maillon de la chaîne aboutissant au diagnostic. Qu'il soit clinicien, anatomopathologiste, biologiste, chaque interlocuteur à son rôle à jouer dans la recherche des populations T anormales indispensables pour conclure quant à la présence ou l'absence de ces hémopathies.

Depuis l'avènement de la CMF ces dernières années, celle-ci est devenue un examen indispensable en biologie médicale, notamment en onco-hématologie, de par sa grande accessibilité ainsi que la rapidité de rendu de résultat. Ainsi, de plus en plus de panels sont imaginés et développés pour répondre le plus précisément et rapidement possible aux interrogations des cliniciens afin d'améliorer la prise en charge des patients. C'est donc dans cette optique que de nouveaux anticorps et par conséquent, de nouvelles cibles telles que TRBC1 sont recherchées entre-autre dans le domaine des lymphopathies T.

Les résultats de ce travail de thèse ont permis de confirmer l'intérêt de l'ajout de l'anticorps anti-TRCB1 à l'ancien panel T utilisé pour faciliter la mise en évidence de population T anormale et de démontrer son caractère clonal grâce à une technique plus rapide que la BM, qui est cependant toujours indispensable pour confirmer la clonalité T de cette population suspecte. Ce travail a donc permis d'inscrire ce nouveau panel au catalogue des examens réalisés par le secteur de CMF du laboratoire d'Hématologie mais également d'observer une légère hausse des demandes de ce type d'analyse. En effet, sur la période du 24 août 2023 au 22 mars 2024, 268 demandes de panel T ont été prescrites contre 246 l'année précédente, sur la même période. Ainsi, cette légère hausse observée sur cette courte période laisse espérer un intérêt croissant des cliniciens pour ce nouveau panel et par conséquent, une augmentation progressive du nombre de demandes.

Tout au long de ce travail, des patients pour lesquels des lymphopathies T étaient suspectées ont été inclus mais également, des patients chez lesquels des lymphopathies T étaient déjà connues. Ainsi, la question subsidiaire de ce travail serait de s'interroger sur l'extension des applications de ce nouveau panel TRBC1 au suivi des lymphopathies T et notamment à sa possible application au suivi de la maladie résiduelle (MRD) déjà largement utilisé dans le versant aiguë des lymphopathies et plus récemment dans le myélome et la leucémie lymphoïde chronique. Pour cela, des études menées à plus large échelle seront nécessaires afin d'assurer une sensibilité suffisante pour une détection la plus précoce possible des rechutes chez ces patients.

Références bibliographiques

1. Jiang M, Bennani NN, Feldman AL. Lymphoma classification update: T-cell lymphomas, Hodgkin lymphomas, and histiocytic/dendritic cell neoplasms. *Expert Rev Hematol*. 2017 Mar;10(3):239–49.
2. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, Attygalle AD, Araujo IB de O, Berti E, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. 2022 Jul;36(7):1720–48.
3. Naeim F, Rhao N, Song S, Phan R. Atlas of Hematopathology : Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics, and Molecular Approaches. Second. 2018. Elsevier. [En ligne]. Édité en 2018 [cité le 22/01/2024].
4. Maciocia PM, Wawrzyniecka PA, Philip B, Ricciardelli I, Akarca AU, Onuoha SC, et al. Targeting the T cell receptor β -chain constant region for immunotherapy of T cell malignancies. *Nat Med*. 2017 Dec;23(12):1416-23.
5. Shi M, Jevremovic D, Otteson GE, Timm MM, Olteanu H, Horna P. Single Antibody Detection of T-Cell Receptor $\alpha\beta$ Clonality by Flow Cytometry Rapidly Identifies Mature T-Cell Neoplasms and Monotypic Small CD8-Positive Subsets of Uncertain Significance. *Cytometry B Clin Cytom*. 2020 Jan;98(1):99–107.
6. Berg H, Otteson GE, Corley H, Shi M, Horna P, Jevremovic D, et al. Flow cytometric evaluation of TRBC1 expression in tissue specimens and body fluids is a novel and specific method for assessment of T-CELL clonality and diagnosis of T-cell neoplasms. *Cytometry B Clin Cytom*. 2021 May;100(3):361-9.
7. Novikov ND, Griffin GK, Dudley G, Drew M, Rojas-Rudilla V, Lindeman NI, et al. Utility of a Simple and Robust Flow Cytometry Assay for Rapid Clonality Testing in Mature Peripheral T-Cell Lymphomas. *Am J Clin Pathol*. 2019 Mar 22;151(5):494–503.
8. Muñoz-García N, Lima M, Villamor N, Morán-Plata FJ, Barrena S, Mateos S, et al. Anti-TRBC1 Antibody-Based Flow Cytometric Detection of T-Cell Clonality: Standardization of Sample Preparation and Diagnostic Implementation. *Cancers*. 2021 Aug 30;13(17):4379.
9. LaRosa DF, Orange JS. Lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Feb 1;121(2):S364–9.
10. Zúñiga-Pflücker JC. T-cell development made simple. *Nat Rev Immunol*. 2004 Jan;4(1):67–72.
11. Ciofani M, Zúñiga-Pflücker JC. The Thymus as an Inductive Site for T Lymphopoiesis. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2007 Nov 1;23(1):463–93.
12. Boudil A, Zeponi V, Skhiri L, Ezine S. T cell lymphopoiesis, the end of a long journey through multiple sites and potentialities. *Hématologie*. 2011 Jan;17(1):24–39.
13. Fry TJ, Mackall CL. The Many Faces of IL-7: From Lymphopoiesis to Peripheral T Cell Maintenance. *J Immunol*. 2005 Jun 1;174(11):6571–6.
14. Winer H, Rodrigues GOL, Hixon JA, Aiello FB, Hsu TC, Wachter BT, et al. IL-7: Comprehensive review. *Cytokine*. 2022 Dec 1;160:156049.
15. Shichkin VP, Antica M. Thymus Regeneration and Future Challenges. *Stem Cell Rev Rep*. 2020;16(2):239–50.
16. Thapa P, Farber DL. The role of the thymus in the immune response. *Thorac Surg Clin*. 2019 May;29(2):123–31.
17. McDonald-McGinn DM, Sullivan KE, Marino B, Philip N, Swillen A, Vorstman JAS, et al. 22q11.2 deletion syndrome. *Nat Rev Dis Primer*. 2015 Nov 19;1:15071.
18. Vaidya HJ, Briones Leon A, Blackburn CC. FOXP1 in thymus organogenesis and development. *Eur J Immunol*. 2016 Aug;46(8):1826–37.
19. Takahama Y. Journey through the thymus: stromal guides for T-cell development and selection. *Nat Rev Immunol*. 2006 Feb;6(2):127–35.
20. Buckland J. Directional cues from CXCR4. *Nat Rev Immunol*. 2003 Dec;3(12):928–928.
21. Misslitz A, Pabst O, Hintzen G, Ohl L, Kremmer E, Petrie HT, et al. Thymic T Cell Development and Progenitor Localization Depend on CCR7. *J Exp Med*. 2004 Aug 16;200(4):481–91.
22. Attaf M, Legut M, Cole DK, Sewell AK. The T cell antigen receptor: the Swiss army knife of the immune system. *Clin Exp Immunol*. 2015 Jul;181(1):1–18.

23. Shiromizu CM, Jancic CC. $\gamma\delta$ T Lymphocytes: An Effector Cell in Autoimmunity and Infection. *Front Immunol.* 2018 Oct 16;9:2389.
24. Schwartz GW, Hershberg U. Conserved variation: identifying patterns of stability and variability in BCR and TCR V genes with different diversity and richness metrics. *Phys Biol.* 2013 Jun;10(3):035005.
25. Horna P, Shi M, Olteanu H, Johansson U. Emerging Role of T-cell Receptor Constant β Chain-1 (TRBC1) Expression in the Flow Cytometric Diagnosis of T-cell Malignancies. *Int J Mol Sci.* 2021 Feb 12;22(4):1817.
26. Neerincx A, Castro W, Guarda G, Kufer TA. NLRC5, at the Heart of Antigen Presentation. *Front Immunol.* 2013 Nov 22;4:397.
27. Rodríguez-Caparrós A, Álvarez-Santiago J, del Valle-Pastor MJ, Suñé C, López-Ros J, Hernández-Munain C. Regulation of T-cell Receptor Gene Expression by Three-Dimensional Locus Conformation and Enhancer Function. *Int J Mol Sci.* 2020 Nov 11;21(22):8478.
28. Krangel MS. Mechanics of T cell receptor gene rearrangement. *Curr Opin Immunol.* 2009 Apr;21(2):133–9.
29. Dudley DD, Chaudhuri J, Bassing CH, Alt FW. Mechanism and Control of V(D)J Recombination versus Class Switch Recombination: Similarities and Differences. In: *Advances in Immunology.* Elsevier; 2005. p. 43–112.
30. Laydon DJ, Bangham CRM, Asquith B. Estimating T-cell repertoire diversity: limitations of classical estimators and a new approach. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2015 Aug 19;370(1675):20140291.
31. Sewell AK. Why must T cells be cross-reactive? *Nat Rev Immunol.* 2012 Sep;12(9):669–77.
32. Kuo TC, Schlissel MS. Mechanisms controlling expression of the RAG locus during lymphocyte development. *Curr Opin Immunol.* 2009 Apr;21(2):173–8.
33. Peralta-Zaragoza O, Recillas-Targa F, Madrid-Marina V. Terminal deoxynucleotidyl transferase is down-regulated by AP-1-like regulatory elements in human lymphoid cells. *Immunology.* 2004 Feb;111(2):195–203.
34. Rizvi MA, Evens AM, Tallman MS, Nelson BP, Rosen ST. T-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2006 Feb 15;107(4):1255–64.
35. Mehta-Shah N, Ratner L, Horwitz SM. Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma. *J Oncol Pract.* 2017 Aug;13(8):487–92.
36. Mugnaini EN, Ghosh N. Lymphoma. *Prim Care Clin Off Pract.* 2016 Dec;43(4):661–75.
37. Mina A, Pro B. T time: Emerging and new therapies for peripheral T-cell lymphoma. *Blood Rev.* 2022 Mar;52:100889.
38. Colon Ramos A, Tarekegn K, Aujla A, Garcia de de Jesus K, Gupta S. T-Cell Prolymphocytic Leukemia: An Overview of Current and Future Approaches. *Cureus.* 2021 Feb 9;13(2):e13237.
39. Cross M, Dearden C. B and T cell prolymphocytic leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2019 Sep;32(3):217–28.
40. Sud A, Dearden C. T-cell Prolymphocytic Leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2017 Apr;31(2):273–83.
41. Staber PB, Herling M, Bellido M, Jacobsen ED, Davids MS, Kadia TM, et al. Consensus criteria for diagnosis, staging, and treatment response assessment of T-cell prolymphocytic leukemia. *Blood.* 2019 Oct 3;134(14):1132–43.
42. Laribi K, Lemaire P, Sandrini J, Materre AB de. Advances in the understanding and management of T-cell prolymphocytic leukemia. *Oncotarget.* 2017 Nov 1;8(61):104664–86.
43. Alemtuzumab : substance active à effet thérapeutique. VIDAL [Internet]. Édité en janvier 2013 [cite le 5/06/2023]. Disponible : <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/alemtuzumab-21871.html>
44. Giudice V, D'Addona M, Montuori N, Selleri C. The Value of Flow Cytometry Clonality in Large Granular Lymphocyte Leukemia. *Cancers [Internet].* 2021 Sep [cited 2023 Aug 24];13(18). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8468916/>
45. Park SH, Lee YJ, Kim Y, Kim HK, Lim JH, Jo JC. T-large granular lymphocytic leukemia. *Blood Res.* 2023 Apr 30;58(Suppl 1):S52–7.
46. Semenzato G, Calabretto G, Barilà G, Gasparini VR, Teramo A, Zambello R. Not all LGL leukemias are created equal. *Blood Rev.* 2023 Jul 1;60:101058.

47. Rose MG, Berliner N. T-cell large granular lymphocyte leukemia and related disorders. *The Oncologist*. 2004;9(3):247–58.
48. Lee H. Mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Blood Res*. 2023 Apr 30;58(Suppl 1):S66–82.
49. Cristofolletti C, Narducci MG, Russo G. Sézary syndrome, recent biomarkers and new drugs. *Chin Clin Oncol*. 2019 Feb;8(1):2–2.
50. Spicknall KE. Sézary syndrome-clinical and histopathologic features, differential diagnosis, and treatment. *Semin Cutan Med Surg*. 2018 Mar;37(1):18–23.
51. Hurabielle C, Thonnart N, Ram-Wolff C, Sicard H, Bensussan A, Bagot M, et al. Usefulness of KIR3DL2 to Diagnose, Follow-Up, and Manage the Treatment of Patients with Sézary Syndrome. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2017 Jul 15;23(14):3619–27.
52. Viguier M, Pouthier F, Tiberghien P, Aubin F. Extracorporeal photochemotherapy. *Transfus Clin Biol*. 2010 Feb;17(1):28–33.
53. Zhang XR, Chien PN, Nam SY, Heo CY. Anaplastic Large Cell Lymphoma: Molecular Pathogenesis and Treatment. *Cancers*. 2022 Mar 24;14(7):1650.
54. Pina-Oviedo S, Ortiz-Hidalgo C, Carballo-Zarate AA, Zarate-Osorno A. ALK-Negative Anaplastic Large Cell Lymphoma: Current Concepts and Molecular Pathogenesis of a Heterogeneous Group of Large T-Cell Lymphomas. *Cancers*. 2021 Sep 17;13(18):4667.
55. Qiu L, Tang G, Li S, Vega F, Lin P, Wang SA, et al. DUSP22 rearrangement is associated with a distinctive immunophenotype but not outcome in patients with systemic ALK-negative anaplastic large cell lymphoma. *Haematologica*. 2022 Dec 1;108(6):1604–15.
56. Xing X, Feldman AL. Anaplastic large cell lymphomas: ALK positive, ALK negative, and primary cutaneous. *Adv Anat Pathol*. 2015 Jan;22(1):29–49.
57. Lymphomes anaplasiques à grandes cellules associés à un implant mammaire (LAGC-AIM), INCa. [En ligne]. Édité en juin 2019 [cité le 22/01/2024].
58. Feldman AL, Laurent C, Narbaitz M, Nakamura S, Chan WC, De Leval L, et al. Classification and diagnostic evaluation of nodal T- and NK-cell lymphomas. *Virchows Arch*. 2023 Jan;482(1):265–79.
59. Marques-Piubelli ML, Amador C, Vega F. Pathologic and molecular insights in nodal T-follicular helper cell lymphomas. *Front Oncol*. 2023;13:1105651.
60. Mohammed Saleh MF, Kotb A, Abdallah GEM, Muhsen IN, El Fakih R, Aljurf M. Recent Advances in Diagnosis and Therapy of Angioimmunoblastic T Cell Lymphoma. *Curr Oncol*. 2021 Dec 20;28(6):5480–98.
61. Broccoli A, Zinzani PL. Peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified. *Blood*. 2017 Mar 2;129(9):1103–12.
62. Oluwasanjo A, Kartan S, Johnson W, Alpdogan O, Gru A, Mishra A, et al. Peripheral T-Cell Lymphoma, not Otherwise Specified (PTCL-NOS). *Cancer Treat Res*. 2019;176:83–98.
63. Hyperéosinophilie et syndromes hyperéosinophiliques, HAS. [En ligne]. Édité en juin 2022 [cité le 25/01/2024].
64. Requena G, Bosch J van den, Akuthota P, Kovalszki A, Steinfeld J, Kwon N, et al. Clinical Profile and Treatment in Hypereosinophilic Syndrome Variants: A Pragmatic Review. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2022 Aug 1;10(8):2125–34.
65. Shomali W, Gotlib J. World Health Organization-defined eosinophilic disorders: 2022 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2022;97(1):129–48.
66. Tzankov A, Reichard KK, Hasserjian RP, Arber DA, Orazi A, Wang SA. Updates on eosinophilic disorders. *Virchows Arch Int J Pathol*. 2023 Jan;482(1):85–97.
67. Simon M, Lefèvre G, Dubois R, Terriou L. Transformation de variants lymphoïdes de syndrome hyperéosinophilique en lymphome angio-immunoblastique. *Rev Méd. Interne*. 2022 Jun 1;43:A73. 67.
68. van Vliet C, Spagnolo DV. T- and NK-cell lymphoproliferative disorders of the gastrointestinal tract: review and update. *Pathology (Phila)*. 2020 Jan;52(1):128–41.
69. Sánchez-Romero C, Bologna-Molina R, Paes de Almeida O, Santos-Silva AR, Prado-Ribeiro AC, Brandão TB, et al. Extranodal NK/T cell lymphoma, nasal type: An updated overview. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2021 Mar;159:103237.

70. Rowley T. Flow Cytometry - A Survey and the Basics. Mater Methods [En ligne]. Mise à jour en avril 2023 [cité le 20/6/2023]. Disponible : <https://www.labome.com/method/Flow-Cytometry-A-Survey-and-the-Basics.html>.
71. Manohar SM, Shah P, Nair A. Flow cytometry: principles, applications and recent advances. *Bioanalysis*. 2021 Feb;13(3):181–98.
72. McKinnon KM. Flow Cytometry: An Overview. *Curr Protoc Immunol*. 2018 Feb 21;120:5.1.1-5.1.11.
73. Adan A, Alizada G, Kiraz Y, Baran Y, Nalbant A. Flow cytometry: basic principles and applications. *Crit Rev Biotechnol*. 2017 Feb 17;37(2):163–76.
74. Fluorochrome chart with the most popular labels. Abcam [En ligne]. Mise à jour en juillet 2021 [cité le 25/06/2023]. Disponible : <https://www.abcam.com/secondary-antibodies/fluorochrome-chart-a-complete-guide>.
75. Janmohamed-Anastasakis S, Rajab A, Illingworth A. Compensation Tips for Beckman Coulter 10-Color Navios Platform. In 2018.
76. Flow cytometry basics. Miltenyi Biotec, France [En ligne]. [cité le 26/06/2023]. Disponible : <https://www.miltenyibiotec.com/FR-en/resources/macs-handbook/macs-technologies/flow-cytometry/flow-cytometry-basics.html>.
77. Overview of Flow Cytometry. *Cell Signaling Technology* [En ligne]. [cité le 27/06/2023]. Disponible : <https://www.cellsignal.com/applications/flow-cytometry/flow-cytometry-overview>.
78. Craig JW, Dorfman DM. Flow Cytometry of T cells and T-cell Neoplasms. *Clin Lab Med*. 2017 Dec;37(4):725–51.
79. Wood BL, Arroz M, Barnett D, DiGiuseppe J, Greig B, Kussick SJ, et al. 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometry: optimal reagents and reporting for the flow cytometric diagnosis of hematopoietic neoplasia. *Cytometry B Clin Cytom*. 2007;72 Suppl 1:S14-22.
80. Beylot-Barry M, Dereure O, Vergier B, Barette S, Laroche L, Machet L, et al. Prise en charge des lymphomes T cutanés : recommandations du Groupe français d'étude des lymphomes cutanés. *Ann Dermatol Vénéréologie*. 2010 Oct;137(10):611–21.
81. Horwitz SM, Ansell S, Ai WZ, Barnes J, Barta SK, Brammer J, et al. T-Cell Lymphomas, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN*. 2022 Mar;20(3):285–308.
82. Shi M, Olteanu H, Jevremovic D, He R, Viswanatha D, Corley H, et al. T-cell clones of uncertain significance are highly prevalent and show close resemblance to T-cell large granular lymphocytic leukemia. Implications for laboratory diagnostics. *Mod Pathol*. 2020 Oct;33(10):2046–57.
83. Horna P, Olteanu H, Jevremovic D, Ottesson GE, Corley H, Ding W, et al. Single-Antibody Evaluation of T-Cell Receptor β Constant Chain Monotypia by Flow Cytometry Facilitates the Diagnosis of T-Cell Large Granular Lymphocytic Leukemia. *Am J Clin Pathol*. 2021 Jun 17;156(1):139–48.
84. Horna P, Shi M, Olteanu H, Johansson U. Emerging Role of T-cell Receptor Constant β Chain-1 (TRBC1) Expression in the Flow Cytometric Diagnosis of T-cell Malignancies. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 12;22(4):1817.
85. Roux E, Dumont-Girard F, Starobinski M, Siegrist CA, Helg C, Chapuis B, et al. Recovery of immune reactivity after T-cell-depleted bone marrow transplantation depends on thymic activity. *Blood*. 2000 Sep 15;96(6):2299–303.
86. Villard J. Revue Médicale Suisse : Immunité cellulaire : les leçons de la transplantation de moelle osseuse allogénique (TMO). Roosnek E, editor. *Revue Médicale Suisse*. 2002;2(2380):395–9.
87. Sellner L, Brüggemann M, Schlitt M, Knecht H, Herrmann D, Reigl T, et al. GvL effects in T-prolymphocytic leukemia: evidence from MRD kinetics and TCR repertoire analyses. *Bone Marrow Transplant*. 2017 Apr;52(4):544–51.

Annexes

Annexe 1. Protocole panel TRBC1	119
Annexe 2. Protocole ancien panel T	120
Annexe 3. Protocole de clonalité T en BM	121
Annexe 4. Cohorte de patients inclus dans la cohorte 1	122
Annexe 5. Cohorte de patients inclus dans la cohorte 2	123
Annexe 6. Note d'information mise à jour panel T	127

Annexe 1. Protocole panel TRBC1

Préparation de l'échantillon : marquage de surface.

- Mettre dans un tube à hémolyse tous les anticorps du panel :

Couleur	FITC	PE	ECD	PE Cy5,5	PE Cy7	APC	APC A700	APC A750	PB	KO	V605
Anticorps ¹	TCRB1 au 1/3	CD4 ³	CD8	CD19 + γδ	CD16 ² + CD56	CD2	CD7	CD5	CD3	CD45	CD10
Volume (μL)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

¹ Les anticorps sont positionnés sur le plateau panel T

² Le CD16 est sur le plateau HPN

³ Le CD4 est sur le plateau LAT3

- Ajouter 50 μL d'échantillon à 10 G de GB/mL (sinon effectuer une dilution dans le PBS)
- Agiter et incuber 15 minutes à l'obscurité
- Ajouter 500 μL de Versalyse avec fixateur
- Incuber 15 min à l'obscurité
- Ajouter du PBS
- Centrifuger 5 min à 650g
- Vider le tube par retournement
- Ajouter 300 μL de PBS
- Cytomètre

Cytomètre : DxFlex

- Nom de l'expérience : TRBC1 Sarah Decheiver
- Nom du panel : Panel T 2 APC

Annexe 2. Protocole ancien panel T

Préparation de l'échantillon : marquage de surface.

- Mettre dans un tube à hémolyse tous les anticorps du panel :

Couleur	FITC	PE	ECD	PE Cy5,5	PE Cy7	APC	APC A700	APC A750	PB	KO
Anticorps	CD4	CD19 + γδ	CD8	CD3	CD56	CD10	CD7	CD5	CD16	CD45
Volume (μL)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

- Ajouter 50 μL d'échantillon à 10 G de GB/mL (sinon effectuer une dilution dans le PBS)
- Agiter et incuber 15 minutes à l'obscurité
- Ajouter 500 μL de Versalyse avec fixateur
- Incuber 15 min à l'obscurité
- Ajouter du PBS
- Centrifuger 5 min à 650g
- Vider le tube par retournement
- Ajouter 300 μL de PBS
- Cytomètre

Annexe 3. Protocole de clonalité T en BM

Préparation de l'échantillon :

- Sang total : extraction ADN
- Moelle : Ficoll puis, extraction ADN

Clonalité T : PCR avec un kit Identiclone™ T Cell Receptor γ Gene Rearrangement Assay 2.0.

- 1 tube échantillon PCR γ
- 1 tube témoin
- Ajout de la AmpliTaq Gold™ de chez Applied Biosystems
- Prendre 45 μ L du mélange et ajouter 5 μ L d'ADN
- Puis, mettre sur plaque et lancer le Gene Mapper (unité de séquençage)

Témoins :

- Tube échantillon : 1 témoin négatif, 1 témoin positif et 1 témoin poly
- Tube témoin : 1 témoin négatif et 1 témoin poly

Bonne qualité de l'ADN si :

- Témoin à 100, 200, 300 et 400 pdb
- Témoin à 600 pdb (rare) : très bonne qualité de l'ADN

Annexe 4. Cohorte de patients inclus dans la cohorte 1

ID	Sexe	Age (ans)	Matrice	Statut	Identification	Pathologie	CRP (mg/L)	Informations autres	Anapath - Compte-rendu	Anapath - Résultats	Formule - Date	Leucocytes (en Giga/L)	Lymphocytes (en %)	Lymphocytes (en Giga/L)	Lymphocytes actifs (en %)	Commentaire	BM - Commentaires	BM - Résultats	% TRBC1+	% TRBC1-	% de CD4 sains TRBC1+	% de CD4 sains TRBC1-	% de CD8 sains TRBC1+	% de CD8 sains TRBC1-	CMF TRBC1 Commentaires	CMF TRBC1 Résultats	CMF hors TRBC1 - Commentaires	CMF hors TRBC1 Résultats	Conclusion	Remarque
1	H	71	Sang	Normal	231 550 840	Lymphome non Hodgkinien B		Lymphopénie, éruption cutanée, anémie macrocytaire, adénopathie			28/03/2023	4,56	3				Polygonal	Négatif	54,60	45,40	44,34	55,66	66,46	33,19	Pas de déséquilibre	Négatif	Pas de population T anormale détectable en cytométrie	Négatif	Normal	
2	F	57	Sang	Normal	230 094 689	Suspicion MGUS	1	Pic monoclonal, pas de signe B									Profil polyclonal irrégulier	Négatif	33,11	66,89	39,50	60,50	21,12	78,88	Pas de déséquilibre	Négatif			Normal	
3	F	16	Sang	Normal	231 658 316	Mononucléose infectieuse		Syndrome mononucléotique			02/08/2023	14,11	26,9	3,8	19,2		Oligoclonal	Négatif	45,30	54,70	48,86	51,14	44,78	55,22	Pas de déséquilibre	Négatif			Normal	
4	H	17	Sang	Normal	230 215 753	Syndrome infectieux ?	22				17/08/2023	5,68	28,7	1,63	21,7		Polygonal	Négatif	39,09	60,91	49,35	50,65	33,98	66,02	Pas de déséquilibre	Négatif			Normal	
5	F	23	Sang	Normal	231 674 520	Hépatite aiguë non grave sur infection à EBV	5				22/08/2023	6,16	72,1	4,44	10		Polygonal	Négatif	34,21	65,79	38,98	61,02	33,56	66,44	Pas de déséquilibre	Négatif			Normal	
6	H	75	Sang	Suspicion	230 086 639	Mycosis fungoidé	1	Lésion cutanée érythémateuse extensive (piqueur d'insecte), pas de sueurs nocturnes	En cours de relecture à Bordeaux Doute sur Mycosis fungoidé avec un infiltrat inflammatoire et dermatose spongiotique avec un infiltrat majoritairement T CD4+	Ambigu	28/03/2023	7,81	15,2	1,19			Profil polyclonal irrégulier à surveiller, rares pics d'intensité relativement faible (à contrôler à distance)	Ambigu	41,79	58,21	45,57	54,43	38,86	61,14	Pas de déséquilibre	Négatif	Pas de population T anormale détectable en cytométrie	Négatif	Ambigu	
7	F	83	Sang	Suivi	230 085 303	Syndrome de Sézary (2023)		Prurit nocturne, érythèmes fugaces	Clone T peu et sang identique : Rapport CD4/CD8 = 16,6 et population CD3+, CD4+, CD26, CD158+	Positif	27/03/2023	5,54	13,5	0,75			Monoclonalité T	Positif	0,00	100,00	NA	NA	NA	NA	Déséquilibre	Positif	Persistence de la population T CD4+, CD5+, CD7 faible représentation 20% des lymphocytes totaux	Positif	Suivi positif	Syndrome de Sézary
8	F	47	Sang	Suspicion	231 551 506	Bilan d'élimination devant un tableau compliqué	12	Raideur des membres supérieurs, lésions prurigineuses érythémato maculo-squameuses, prurit			29/03/2023	6,36	45,9	2,92			Polygonal	Négatif	45,16	54,84	44,96	55,04	46,49	53,51	Pas de déséquilibre	Négatif	Réactionnel	Négatif	Non pathologique	
9	F	70	Moelle	Suivi	230 094 525	Lymphome à cellules T folliculaire helper nodulaires de type angio-immunoblastique (2022)			Lymphome T de type LH : Biopsie axillaire gauche : CD3+, CD4+, CD5+, CD10-, CXCL13+, ICOS+, PD1+, 80% Ki67, NCAM-, CD20+ sur la majorité des lymphocytes, CD30+ et BCL6+ sur quelques grandes cellules et CD7+ et CD8+ sur des petits lymphocytes réactionnels	Positif	05/04/2023					ADN de mauvaise qualité ne permettant pas une exploration du répertoire lymphoide T	Echec	0,33	99,67	NA	NA	NA	NA	Déséquilibre	Positif	Présence de la population T anormale CD3+, CD4+, CD5+, CD7 faible, CD10- retrouvé dans le sang, représentant 42% de l'ensemble des lymphocytes médullaires. Au total, infiltration médullaire associée à une phase leucémique de son lymphome T connu	Positif	Suivi positif	Lymphome à cellules T folliculaire helper nodulaires de type angio-immunoblastique	
9	F	70	Sang	Suivi	230 094 688		24		Biopsie cutanée : CD3+, CD4+, CD5+ sur la majorité des lymphocytes, rarement CD20+ et CD30+, 80% Ki67 et CD7+ et CD8+ sur des petits lymphocytes	Positif	05/04/2023	8,47	31,5	2,67			Monoclonalité T	Positif	0,14	99,86	NA	NA	NA	NA	Déséquilibre	Positif	Présence dans le sang de la même population T anormale médullaire (CD3+, CD4+, CD5+, CD7 faible, CD10-) représentant 40% de l'ensemble des lymphocytes	Positif	Suivi positif	Phase leucémique du lymphome à cellules T folliculaire helper nodulaires de type angio-immunoblastique
10	H	53	Moelle	Suivi	230 106 333	Leucémie polymorphocytaire T (2020)		Allo-greffe phéno-identique (2020)	Ganglion : peu de cellules récupérées, la majorité des éléments à un profil CD45 faible, CD3+, CD4+, CD8+, CD5+, CD7+ (profil connu T PLL)	Positif	18/04/2023						Monoclonalité T	Positif	0,00	100,00	NA	NA	NA	NA	Déséquilibre	Positif	Présence d'une population T anormale avec le profil T PLL connu (CD45 faible, CD3+, CD5+, CD7+, CD8-) en faveur d'une localisation médullaire <i>à minima</i> de la T PLL	Positif	Suivi positif	Leucémie polymorphocytaire T
10	H	53	Sang	Suivi	230 106 279		3	Du prophylactique (2021)		Positif	18/04/2023	6,44	18,9	1,22		Pas de cellules anormales	Monoclonalité T	Positif	0,00	100,00	NA	NA	NA	NA	Déséquilibre	Positif	Présence d'une faible population T anormale avec le profil T PLL connu (CD45 faible, CD3+, CD4+, CD5+, CD7+, CD8-)	Positif	Suivi positif	Leucémie polymorphocytaire T
11	F	79	Sang	Suspicion	230 108 267	Bilan étiologique hyperéosinophilie	54	Hyperéosinophilie, thrombocytose, pas de sueurs nocturnes, pas d'adénopathies			19/04/2023	10,86	9,6	1,04			Polygonal	Négatif	40,37	59,63	40,37	59,63	53,45	46,55	Pas de déséquilibre	Négatif	Présence d'une population T CD3+, CD7+ fort, CD5+, CD4+, CD8-, CD10- représentant environ 60% des lymphocytes totaux	Ambigu	Non pathologique	
12	F	75	Sang	Suspicion	230 199 373	Transformation en LAM Mycosis fungoidé ?	57	Éruption cutanée prurigineuse avec papules disséminées Syndrome myélodysplasique (2021)	Absence d'argument pour MF Biopsie de la racine de cuisse droite : infiltrat lymphocytaire T périvasculaire dans le derme superficiel sans épidermotropisme, absence de follicule pileux/bacé	Négatif	27/07/2023	2,24	30,4	0,68		Pas de cellules de Sézary	Oligoclonal	Négatif	46,60	53,40	43,71	56,29	54,36	45,64	Pas de déséquilibre	Négatif	Pas de profil T anormal détectable en cytométrie	Négatif	Non pathologique	LAM post SMD
13	F	63	Sang	Suspicion	230 199 910	Inversion CD4/CD8		Brive			27/07/2023			1,23			Polygonal	Négatif	37,93	62,07	39,29	60,71	29,52	70,48	Pas de déséquilibre	Négatif	Pas de population T anormale détectable en cytométrie, à noter une inversion du ratio CD4/CD8 en faveur du CD4	Négatif	Non pathologique	
14	F	71	Sang	Suivi	230 152 228	Leucémie à grands lymphocytes granuleux T		Agranulocytose et thrombopénie auto-immune, splénomégalie, HTAP modérée			07/06/2023	2,42	42,1	1,02		Absence d'anomalie morphologique	Gamma : polyclonal Béta A : polyclonal Béta B : polyclonal irrégulier Béta C : interprétable	Négatif	42,95	57,05	40,80	59,20	48,40	51,60	Pas de déséquilibre	Négatif	Présence d'une expression généralisée du CD56 (activation cytotoxique) et d'une population anormale CD3+, CD4+, CD7+, CD8 faible qui représente 20% des LT et 16% des lymphocytes totaux. Ce profil est anormal mais en dessous des seuils diagnostics pour la LGL	Ambigu	Suivi négatif	
15	F	79	Sang	Suspicion	231 653 636	Lymphome non Hodgkinien	67	AEG, IRA, érythème palma-plantaire, hyperaldémie maligne réfractaire									Polygonal	Négatif	55,68	44,32	49,20	50,80	57,07	42,93	Pas de déséquilibre	Négatif	Pas de population T anormale détectable en cytométrie	Négatif	Non pathologique	
16	H	68	Ascite	Suspicion	230 182 253 230 182 924	Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK-		Asthénie, troubles digestifs, adénopathies axillaires gauches, tuméfaction basi-cervicale gauche sus-claviculaire, LDH à 700 U/L, sueurs nocturnes Lymphome de la zone marginale (2022)	Stade IV péritonéal : Biopsies ganglionnaires sus-claviculaires gauches : CD30+, ALK- Liquide d'ascite : nombreuses cellules tumérales d'allure lymphoïde, de grande taille, noyau irrégulier, parfois nucléolé	Positif						Monoclonal	Positif	99,97	0,03	NA	NA	NA	NA	Déséquilibre	Positif	Population 1 (70%) : CD3-, CD5-, CD7-, CD10- et CD2- Population 2 (30%) : CD3-, CD5-, CD7faible, CD4+, CD8- et CD10-	Positif	Pathologique	Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK-	
17	H	42	Moelle	Suivi	230 220 465	Lymphome T périphérique à grandes cellules (2016)		Fièvre, AEG, splénomégalie OI de Brive								Monoclonal	Positif	0,00	100,00	NA	NA	NA	NA	CD45 faible, CD10-, CD4-, CD8- et -, CD3+ et TRBC1 clonal	Positif	Pas de profil T anormal	Négatif	Suivi positif	Rechute lymphome T périphérique à grandes cellules	

Annexe 5. Cohorte de patients inclus dans la cohorte 2

ID	Sexe	Age (ans)	Matrice	Statut	Contexte	CNP (mg/L)	Informations autres	Anapath - Compte-rendu	Anapath Résultats	Leucocytes (en Giga/L)	Lymphocytes (en %)	Lymphocytes (en Giga/L)	Commentaire	BM Commentaires	BM - Résultats GLIMS	BM - Relecture	% TRBC1+	% TRBC1	% de CD4 sains TRBC1+	% de CD4 sains TRBC1-	% de CD8 sains TRBC1+	% de CD8 sains TRBC1-	CMF TRBC1 - Commentaires	CMF TRBC1 Résultats	CMF TRBC1 - Commentaires GLIMS	CMF TRBC1 Résultats GLIMS	Conclusion	Remarque
18	H	75	Sang	Suspicion	Hyperéosinophilie (2023)	38	Eruption cutanée étendue et récidivante associée à une hyper-IgE et hyperéosinophilie sanguine	Biopsie cutanée (pi du coude gauche) : infiltrat inflammatoire dermique périvasculaire. L'hypothèse d'une histiocytose peut-être éliminée	Négatif	10,51	14,7	1,55		Monoclonal	Positif		95,30	4,70	NA	NA	NA	NA	Présence d'une population T anormale CD3 faible, CD2+, CD7+, CD5 faible, CD8+, CD10- et TRBC1 clonal représentant 12% des lymphocytes totaux	Positif	CD3+, CD7+, CD5 faible, CD8+ et TRBC1 clonal	Positif	Pathologique	Syndrome hyperéosinophilique avec variant lymphoïde T d'expression cutanée
19	F	67	Sang	Suspicion	Syndrome de Sézary		Chi de Brive				2,09			Monoclonal	Positif		33,01	66,99	37,55	62,45	26,66	73,34	Pas de clone détectable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Pas de déséquilibre	Négatif	Pathologique	
20	H	74	Sang	Suspicion	Lymphopathie T	109	PAR, AEH, asthénie, anorexie Lymphome B non Hodgkinien associé			4,85	11,9	0,58					34,18	65,82	47,14	52,85	16,88	83,12	Pas de clone détectable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Pas de déséquilibre	Négatif	Non pathologique	Syndrome de type VEXAS like
21	H	53	Sang	Suivi	Hyperéosinophilie avec population lymphocytaire T anormale sans atteinte d'organe non traité (2021)	2				8,92	27,7	2,47		Détection d'un pic monoclonal faible et présence d'une population polyclonale	Ambigu	Oligoclonal	39,73	60,02	40,73	59,27	34,33	59,27	Déséquilibre CD4/CD8 en faveur de CD4+ mais pas de population anormale (population CD7+, CD5- de 126 cellules avec TRBC1 clonal) Probable réaction immunitaire en cours (EP et IFIX)	Négatif	Déséquilibre CD4/CD8 avec excès de cellules CD4+, une partie des cellules T CD4 avec une expression un peu diminuée du CD7 mais sans déséquilibre TRBC1. On ne peut pas conclure en CMF sur le caractère réactionnel ou anormal	Ambigu	Suivi négatif	
22	H	53	Moelle	Suivi	Leucémie prolymphocytaire T (2020)		Allo-greffe phéno-identique (2020) DU prophylactique (2021)						Absence de clonalité T connue au NGS	Négatif		10,78	89,22	NA	NA	NA	NA	Présence d'une population anormale CD4+, CD8+, CD5 faible, CD7+ et déséquilibre de TRBC1 différent du clone au diagnostic représentant 10% des lymphocytes totaux Présence d'une population CD7+, CD5- correspondant aux NK (expression du CD56, CD16) présents en grande quantité sur ce prélèvement post allo-greffe	Ambigu	Présence d'une sous-population anormale CD4+, CD8-, CD5-, CD2+, CD7+, TCl1- et déséquilibre de TRBC1 différent du clone au diagnostic. Réactionnel ou tumoral ?	Ambigu	Suivi négatif		
23	F	46	Sang	Suspicion	Syndrome de Sézary	4	Asthénie, xérose cutanée, alopecie, troubles du transit, SMV, adénopathies immunophénotypage sang Bordeaux : population T CD4+, CD7-, CD26- monoclonale (expression homogène faible de TCR BC1) évaluée à 47% des lymphocytes totaux (soit 3,6 G/L). Absence d'expression de CD158k. Critère B2 de l'EORTC Sézary	Biopsie adéno-pathie rétro-péritonéale et cutanée Adéno-pathie : CD3+, CD3+, CD4+, CD5+, CD7- compatible avec Sézary Peau : absence d'argument pour lymphome cutané	Positif	17,54	39,3	6,9	Présence de lymphocytes à noyaux irréguliers, repliers, présence de vacuoles associée à une hyperéosinophilie	Monoclonal	Positif		99,61	0,39	NA	NA	NA	NA	Présence d'une population T anormale CD3+, CD2+, CD5+, CD7 faible, CD4+, CD8-, CD10- et TRBC1 clonal représentant 55% des lymphocytes totaux	Positif	Population T CD4+ CD8- CD7 faible, CD5+, CD10-, CD2+	Positif	Pathologique	Syndrome de Sézary
24	H	62	Sang	Suspicion	Hyperéosinophilie (2023)	6				9,49	23,5	2,23					45,14	54,86	46,07	53,93	44,14	55,86	Pas de clone détectable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Déséquilibre du ratio CD4/CD8 en faveur des CD4 sans nette augmentation en valeur absolue (1,36 G/L) et sans preuve de clonalité (pas de déséquilibre de TRBC1 sur les LT)	Négatif	Non pathologique	
25	H	34	Sang				Chi de Brive				1,14						44,61	55,39	44,74	55,26	43,84	56,16	Pas de clone détectable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Pas de clone détectable en CMF	Négatif	Non pathologique	
26	H	70	Moelle	Suivi	Lymphome à cellules T folliculaire helper nodulaires de type angio-immunoblastique		Chi de Brive										0,00	100,00	NA	NA	NA	NA	Persistence de la population T anormale de profil CD45 fort, CD3+, CD4+, CD5+, CD7 faible, CD16-, CD56- et TRBC1 clonal représentant 16% des lymphocytes totaux	Positif	Persistence d'une population T anormale de profil CD45 fort, sCD3+, CD4+, CD5+, CD7 faible, CD16-, CD56- représentant 29% des lymphocytes totaux	Positif	Suivi positif	Lymphome à cellules T folliculaire helper nodulaires de type angio-immunoblastique
27	F	79	Sang	Suivi	Lymphome à cellules T folliculaire helper nodulaires de type angio-immunoblastique (2016)	20	Lymphome B à grande cellules EBV associé (2022)			5,31	19,2	1,02					0,00	100,00	NA	NA	NA	NA	Persistence de la population T anormale CD3+, CD2+, CD4+, CD5+, CD7+, CD10-, CD16-, CD56- décrite au diagnostic et TRBC1 clonal représentant 0,45% des lymphocytes totaux	Positif	Persistence de la population sCD3+, CD4+, CD5+, CD7+ décrite au diagnostic représentant 0,62% des lymphocytes totaux	Positif	Suivi positif	Lymphome à cellules T folliculaire helper nodulaires de type angio-immunoblastique
28	H	54	Sang	Suspicion	Lymphopathie T		Chi de Brive				3,81						43,01	56,99	45,62	54,38	38,95	61,05	Pas de clone détectable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Hyperlymphocytose majoritairement de type T sans anomalie du profil phénotypique, absence de trou phénotypique et TRBC1 équilibré	Négatif	Non pathologique	
29	H	71	Moelle	Suspicion	Lymphopathie T		Pas de suivi à Limoges (06/02/2024)							Monoclonal	Positif		12,66	87,34	NA	NA	NA	NA	Présence d'une population T anormale CD3+, CD2+, CD7 dim, CD5+, CD4+, CD8 faible, CD10- et TRBC1 clonal représentant 14% des lymphocytes totaux	Positif	Présence d'une population T anormale CD4+, CD7 dim, CD5+, CD8 faible représentant 16% des lymphocytes totaux	Positif	Pathologique	Lymphopathie T
30	F	52	Sang	Suspicion	Lymphome T anaplasique lié aux implants mammaires	3	Prothèse mammaire (2016) PET-scan : localisation des foyers hypermétaboliques intra-mammaires bilatéraux en rapport avec l'ablation (2023) sans lésions suspectes ailleurs	Biopsie sein droit : LNH T anaplasique lié aux implants mammaires	Positif			1,02					37,68	62,22	39,15	60,85	33,55	66,45	Pas de profil anormal T détectable en cytométrie	Négatif	Pas de profil anormal T détectable en cytométrie	Négatif	Pathologique	LNH T anaplasique lié aux implants mammaires
31	H	72	Moelle	Suspicion	Contrôle de bilan de neutropénie		Chi de Brive						Pas assez de cellules après FICOLL	Echec		11,66	88,34	NA	NA	NA	NA	Présence d'une population anormale CD3+, CD2+, CD5+, CD7+, CD4+, CD8 faible et TRBC1 clonal représentant 2,5% des lymphocytes totaux	Positif	Présence d'une sous-population anormale CD3+, CD2+, CD5+, CD7+, CD4+ accrochage du CD8 et déséquilibre de TRBC1 associée à la présence de cellules lymphoïdes anormales en cytologie	Positif	Pathologique	Lymphome NOS	
32	H	49	Sang	Suspicion	Exacerbation de la dermatite atopique ? Mycosis fungoïde ? Surtitrication ?	1	Erythrodermie sur poussée de dermatite atopique	Biopsie cutanée : absence d'infiltrat lymphocytaire suspect	Négatif	11,8	19,1	2,25					42,79	57,21	43,65	56,35	37,6	62,01	Pas de clone détectable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Lymphocytose T	Négatif	Non pathologique	Poussée de dermatite atopique
33	H	95	Sang	Suspicion	hyperlymphocytose en chirurgie orthopédique	9					9,84						42,99	57,01	42,71	57,29	35,13	64,87	Pas de clone détectable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Pas de clone	Négatif	Non pathologique	Hémopathie B non LLC (Mastates à 3)
34	H	52	Moelle	Suivi	Leucémie prolymphocytaire T (2022)		Immunophénotypage CMF : CD3+, CD4+, CD5+, CD7+, TCl1+, monoclonal TCR b (négatif) Allogreffe phéno-identique (2023)							Polyclonal en NGS	Négatif		44,1	55,9	39,14	60,78	44,41	55,32	Pas de clone détectable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Absence de clone T TCl1- identifiable	Négatif	Suivi négatif	Rémission

ID	Sexe	Age (ans)	Matrice	Statut	Contexte	CRP (mg/L)	Informations autres	Anapath - Compte-rendu	Anapath Résultats	Leucocytes (en Giga/L)	Lymphocytes (en %)	Lymphocytes (en Giga/L)	Commentaire	BM Commentaires	BM - Résultats GLIMS	BM Relecture	% TRBC1+	% TRBC1	% de CD4 sains TRBC1+	% de CD4 sains TRBC1-	% de CD8 sains TRBC1+	% de CD8 sains TRBC1-	CMF TRBC1 - Commentaires	CMF TRBC1 Résultats	CMF TRBC1 - Commentaires GLIMS	CMF TRBC1 Résultats GLIMS	Conclusion	Remarque
35	H	66	Moelle	Suspicion	Hyperéosinophilie (2022)		Maladie de Kimura (hyperplasie angiolymphoïde avec éosinophiles) probablement associée à un syndrome hyperéosinophilique lymphoïde	Biopsie cutanée : absence d'argument en faveur d'un lymphome T ou de Hodgkin	Négatif					Polyclonal	Négatif		39,33	60,67	41,15	58,85	32,88	67,12	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Déséquilibre CD4/CD8 en faveur des CD4 Pas de déséquilibre TRBC1	Négatif	Non pathologique	
35	H	66	Sang	Suspicion	Hyperéosinophilie (2022)	11			Négatif	43,22	8,9	3,85	Hyperéosinophilie (30,65 G/L)	Polyclonal	Négatif		40,19	59,81	40,17	59,83	34,84	65,04	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	déséquilibre CD4/CD8 en faveur des CD4 Pas de déséquilibre TRBC1	Négatif	Non pathologique	
36	H	79	Sang	Suivi	Lymphopathie T		Chi de Brive				0,5						0,57	99,43	NA	NA	NA	NA	Persistance d'une population T anormale CD4+, CD8-, CD5-, CD7+ représentant 7,5% des lymphocytes totaux	Positif	Persistance d'une population T anormale CD4-, CD8-, CD5 faible, CD7+ représentant 24% des lymphocytes totaux	Positif	Suivi positif	Lymphopathie T
37	H	65	Sang	Suspicion	Mycosis fungoïde		Plaques érythémato-squamieuses du tronc, d'aspect violacé au tarse et atteinte du cuir chevelu à type de casque infiltré	Biopsie du cuir chevelu	Négatif	7,06	24,8	1,75		Polyclonal	Négatif		46,17	53,83	46,5	53,5	44,39	55,37	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Pas de profil anormal T décelable en cytométrie	Négatif	Non pathologique	
38	H	67	Sang	Suivi	Lymphome à cellules T folliculaire helper nodulaires de type angio-immunoblastique (2017)	14	Allogreffe (2018)			3,91	27,1	1,06					5,19	94,81	NA	NA	NA	NA	Présence d'une population T anormale CD3+, CD2+, CD7+, CD5-, CD8+, TRBC1 déséquilibré, CD10- et TRBC1 clonal représentant 2% des lymphocytes totaux	Positif	Présence d'une population T anormale CD5-, CD7+, sCD3+, TRBC1 déséquilibré, CD2+, CD10-	Positif	Suivi positif	Lymphome à cellules T folliculaire helper nodulaires de type angio-immunoblastique
39	H	66	Sang	Suivi	Leucémie à grands lymphocytes granuleux T (2019)	1				15,82	42,5	6,72		3 pics monoclonaux : 2 déjà connu et 1 nouveau	Positif		13,27	86,73	NA	NA	NA	NA	Présence d'une population T anormale CD3+, CD2+, CD5-, CD7+, CD8 exclusivement, CD10- et TRBC1 clonal représentant 1% des lymphocytes totaux	Positif	Présence d'une population T anormale CD3+, CD5-, CD7+, CD8 exclusivement, CD10-, déséquilibré pour TRBC1	Positif	Suivi positif	Leucémie à grands lymphocytes granuleux T
40	H	72	Sang	Suspicion	Mycosis fungoïde ou Sézary	11	Eruption cutanée maculo-papuleuse, prurit et altération de l'état général	Biopsies cutanées : discrète dermatose lichénoïde. Absence d'arguments pour une dermatose bulleuse auto-immune et de vasculature. A confronter à la clinique	Négatif	9,84	38,1	3,75					10,08	89,92	NA	NA	NA	NA	Présence d'une population T anormale CD3 fort, CD2+, CD5+, CD7+, CD4+, CD8 faible, CD10- et TRBC1 clonal représentant 4% des lymphocytes totaux	Positif	Déséquilibre d'expression du TRBC1 sur 16% des LT avec phénotype CD3 fort, CD4+	Positif	Non pathologique	7 Pas d'arguments cliniques pour lymphome et recherche de cellules de Sézary.
27	F	79	Liquide pleural	Suivi	Rechute de lymphome à cellules T folliculaire helper nodulaires de type angio-immunoblastique		LAI T CD3+, CD5+, CD7+, CXCL13+, CD10+, BCL6+, PDONE+, EBV+ (2016)										32,78	67,22	37,39	62,61	26,58	73,40	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	LT polytypiques au sens du TRBC1 sur les 20% de LT CD7-; Absence d'arguments immunophénotypiques pour le SLP T	Négatif	Suivi négatif	Petite phase leucémique circulante du lymphome T
41	H	71	Sang	Suspicion	Mycosis fungoïde ou Sézary	33	Atopie depuis l'enfance, érythrodermie, lésions très lésionnelles atropes cutanée généralisée	Biopsie cutanée : en faveur d'une dermatose spongiotique avec infiltration d'éosinophiles (dermatose atopique). Pas d'argument pour un psoriasis ou mycosis fungoïde	Négatif	9,82	18,2	1,79	Hyperéosinophilie (3,40 G/L) isolée	2 pics monoclonaux et persistance LT polyclonaux	Positif		10,89	89,11	NA	NA	NA	NA	Présence d'une population T CD3+, CD2+, CD5+, CD7 faible, CD4+, CD10- et TRBC1 clonal représentant 14% des lymphocytes totaux	Positif	Présence d'une population T CD3+ CD4+ CD7- avec déséquilibre du ratio TRBC1 à 5,2% correspondant à 17% des LT posant la question d'un clone T circulant <i>à minima</i>	Positif	Pathologique	Manque d'informations
42	F	76	Sang		Chi de Brive						0,65						40,22	59,78	42,42	57,55	39,19	60,81	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Inversion du ratio CD4/CD8, sans autres anomalies phénotypique avec un rapport TRBC1 42%. Absence d'argument immunophénotypique pour une phase leucémique d'un SLP-T	Négatif	Non pathologique	
43	H	66	Sang	Suspicion	Lymphopathie T		Chi de Brive				1,98						5,87	94,13	NA	NA	NA	NA	Présence d'une population T anormale CD3+, CD8+, CD7+, CD5 faible et TRBC1 clonal représentant 22% des lymphocytes totaux	Positif	Pas de profil anormal T décelable en cytométrie	Négatif	Pathologique	Manque d'informations (patient de Brive)
14	F	71	Sang	Suivi	Leucémie à grands lymphocytes granuleux T		Agranulocytose et thrombopénie auto-immune, splénomégalie, HTAP modérée			3,24	9,9	0,32					42,72	57,28	41,15	58,85	45,53	53,96	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Pas d'expression anormale du CD56 sur les LT. La population anormale CD3+, CD8-, CD7+, CD5 faible, CD56- et CD16- représente 7% des LT et 9,2% des lymphocytes totaux. TRBC1 équilibré. Expansion réactionnelle ? Possibilités d'étudier le répertoire T Vbeta (Remes)	Négatif	Suivi négatif	
10	H	53	Ganglion	Suivi	Leucémie polymorphocytare T (2020)		AEG, fièvre, oedèmes, sueurs nocturnes, éruption érythémateuse violacée diffuse, plaie, centrée sur les vaisseaux	Allo-greffe phéno-identique (2020) DU prophylactique (2021)															Echec	Prélevement quasi-acellulaire	Echec	Echec		
44	H	52	Sang	Suspicion	Pityriasis rubra piliaire (érythrodermie et hypogammaglobulinémie associées)	6		Biopsie cutanée lombaire gauche : aspect compatible avec un pityriasis rubra piliaire Biopsie cutanée dos : limite normale de dermatose spongiotique sans aspect lichénoïde ou bulleux	Négatif			Prélevement coagulé		Polyclonal	Négatif		47,01	52,99	49,03	50,97	40,08	59,73	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Pas de profil anormal T décelable en cytométrie	Négatif	Non pathologique	

ID	Sexe	Age (ans)	Matrice	Statut	Contexte	CRP (mg/L)	Informations autres	Anapath - Compte-rendu	Anapath Résultats	Leucocytes (en Giga/L)	Lymphocytes (en %)	Lymphocytes (en Giga/L)	Commentaire	BM Commentaires	BM - Résultats GLIMS	BM Relecture	% TRBC1+	% TRBC1-	% de CD4 sains TRBC1+	% de CD4 sains TRBC1-	% de CD8 sains TRBC1+	% de CD8 sains TRBC1-	CMF TRBC1 - Commentaires	CMF TRBC1 Résultats	CMF TRBC1 - Commentaires GLIMS	CMF TRBC1 Résultats GLIMS	Conclusion	Remarque
45	H	51	Moeile	Suspicion	Bicytopenie profonde dans un contexte de carence en B9 et lésions gastriques suspectes												42,64	57,36	41,19	58,81	45,02	54,68	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Pas de profil anormal T décelable en cytométrie	Négatif	Non pathologique	
46	F	73	Sang	Suspicion	Bilan étiologique	83	Dermatose neutrophilique urticariante, présence d'anticorps anti-lésions, asthénie, dégradation de l'état cutané, érythrodermie	Biopsie cutanée des : discrets lésions de dermatose lichénoïde compatible avec une toxicodermie	Négatif	11,09	6	0,67		Polyclonal	Négatif		42,88	57,12	42,94	57,06	37,75	61,92	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Lymphopénie avec déséquilibre CD3 et excès de CD4 mais TRBC1 équilibré. Pas d'arguments formels en CMF pour conclure à une population T clonale	Négatif	Non pathologique	
47	H	67	Sang	Suspicion	Lymphopathie T		Polyadénopathies	Adénopathie cervicale : infiltration ganglionnaire par une prolifération lymphomateuse T CD4+ difficile à classer. Le profil cytotoxique est compatible avec un lymphome T périphérique NOS. On ne peut pas formellement éliminer une localisation ganglionnaire d'un lymphome T primitif du tractus gastro-intestinal ou primitif cutané LB : CD20+ LT : CD3+, CD3+, CD5+, CD4+, CD3+, CD7+, granzyme+, GATA3+ Expression de PDL1, BCL6 et MUM1*	Positif			0,34					6,29	93,71	NA	NA	NA	NA	Présence d'une petite population T anormale CD3+, CD2+, CD5+, CD7 int, CD4+ et TRBC1 clonal représentant 7,5% des lymphocytes totaux	Positif	Présence d'une petite population T (0,27%) CD3+, CD5+, CD7 int, CD4+ avec déséquilibre du TRBC1 posant la question d'un clone T. A investiguer	Positif	Pathologique	Lymphome à cellules T folliculaire helper nodulaires de type angio-immunoblastique
48	H	78	Sang	Suivi	Rechute du lymphome ? Autre ?	22	Asthénie, perte de poids, toux sèche, malaises et chute Lymphome folliculaire nodulaire non Hodgkinien (2022)			13,61	3,5	0,48					36,88	63,12	40,1	59,9	24,51	75,4	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Des sous-populations B, T et NK équilibrées. Ratio CD4/CD8et y6 normal. Absence d'expression de CD10 sur les CD4. Absence de trou phénotypique et profil TRBC1 équilibré	Négatif	Suivi négatif	Méningite aseptique
49	H	34	Sang	Suspicion	Mycosis fungoides		Plaques eczématiformes	Biopsie du haut du dos : infiltrat lymphocytaire piloteur de phénotype T CD4 faisant discuter le diagnostic de MF. A confronter à la clinique Biopsie du mollet droit : dans les limites de la normale BM (biopsie) : polyclonal faible irrégulier	Ambigu	6,56	38,7	2,54		1 pic monoclonal parmi un profil polyclonal	Positif	Oligoclonal (petit pic)	38,98	61,02	44,96	55,04	31,59	68,17	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Des sous-populations B, T et NK équilibrées. Ratio CD4/CD8et y6 normal. Absence d'expression de CD10 sur les CD4. Absence de trou phénotypique et profil TRBC1 équilibré	Négatif	Douteux	
50	H	44	Sang	Suspicion	Évaluation projet de CAR-T Cells	36	Syndrome tumoral Syndrome d'activation macrophagique DLBCL réfractaire au R-CHOP			5,41	1,5	0,08					42,2	57,8	42,37	57,63	41,29	58,71	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Hétérogénéité d'expression du CD5 et CD7 sur les lymphocytes CD3+ sans anomalies du TRBC1 probablement réactionnelle	Négatif	Non pathologique	
51	F	19	Sang	Suspicion	Bilan étiologique	3	Test de Combs + en IgG sans hémolyse dans un contexte probable d'infection à Mycoplasma pneumoniae avec anémie et leucopenie initiale de correction spontanée			4,18	9,8	0,41					37,16	62,84	43,63	56,37	32,4	67,6	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Augmentation relative des sous-populations T y6 et NK au détriment des lymphocytes T, sans argument de clonalité, probablement réactionnel	Négatif	Non pathologique	
52	H	81	Sang	Suspicion	Bilan étiologique	2	Apparition d'un foyer métabolique au niveau du cotyle droit : progression de la maladie lymphomateuse ? Autre ? DLBCL avec localisation médullaire et syndrome d'activation macrophagique			3,86	24,8	1,65					41,76	58,24	45,49	54,51	27,05	72,95	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Des sous-populations B, T et NK équilibrées. Augmentation du ratio CD4/CD8. Taux des y6 normal. Absence d'augmentation du CD10 sur les CD4. Environ 9% des LT présentant un trou phénotypique (perte du CD7) possiblement réactionnel car profil TRBC1 équilibré	Négatif	Non pathologique	
51	F	19	Sang	Suspicion	Bilan étiologique	1	Test de Combs + en IgG sans hémolyse dans un contexte probable d'infection à Mycoplasma pneumoniae avec anémie et leucopenie initiale de correction spontanée			4,65	13,8	0,64					37,77	62,23	45,82	54,18	28,53	71,1	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Augmentation relative des lymphocytes y6 (14%) d'allure réactionnelle et des LB (32%) au détriment des LT. Pas de profil anormal T décelable en cytométrie. Profil TRBC1 équilibré	Négatif	Non pathologique	
53	F	36	Sang	Suspicion			Ch de Brive				4,89						52,09	47,91	53,25	46,75	48,15	51,49	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Ratio CD4/CD8 un peu augmenté. Absence de trou phénotypique sur les T et TRBC1 équilibré	Négatif	Non pathologique	
54	H	81	Sang	Suspicion	Lymphome cutané	25	Érythrodermie prurigineuse avec atteintes particulièrement intenses des paumes et plantes de pieds, rougeurs généralisées laissant place à des desquamations	Biopsie cutanée du bras gauche	Négatif	3,98	23	2,05		Oligoclonal	Négatif		43,89	56,11	52,75	47,25	14,11	85,71	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Nette prédominance T CD4 sans déséquilibre d'expression de TRBC1 et sans trou phénotypique.	Négatif	Non pathologique	
55	F	47	Sang	Suivi	Lymphome T digestif associé à une maladie coeliaque (2016)	1	Diarrhées et météorisme abdominal plutôt inhabituel et persistant	Biopsie colique sur muqueuse inflammatoire : compatible avec une localisation du lymphome T connu (CD2+, CD3+, CD4-, CD5-, CD7-, CD8-) mais de profil polyclonal	Négatif	7,34	54,2	3,98	Présence d'une légère hyperlymphocytose avec quelques lymphocytes atypiques	Polyclonal	Négatif		44,18	55,82	49,68	50,32	35,92	64,08	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Pas de population T anormale décelable en CMF (on ne retrouve pas les cellules CD2+, CD10+ et marqueurs T négatifs décrits au diagnostic)	Négatif	Suivi négatif	

ID	Sexe	Age (ans)	Matrice	Statut	Contexte	CRP (mg/L)	Informations autres	Anapath - Compte-rendu	Anapath Résultats	Leucocytes (en Giga/L)	Lymphocytes (en %)	Lymphocytes (en Giga/L)	Commentaire	BM Commentaires	BM - Résultats GLIMS	BM Relecture	% TRBC1+	% TRBC1-	% de CD4 sains TRBC1+	% de CD4 sains TRBC1-	% de CD8 sains TRBC1+	% de CD8 sains TRBC1-	CMF TRBC1 - Commentaires	CMF TRBC1 Résultats	CMF TRBC1 - Commentaires GLIMS	CMF TRBC1 Résultats GLIMS	Conclusion	Remarque
34	H	52	Moelle	Suivi	Leucémie prolymphocytaire T		Fièvre persistante avec hyperleucocytose à lymphocytes (180 G/L), anémie, thrombopénie (< 20 G/L) et LDH à 1 500 U/L associée à une HSMG Greffe géno-identique (2022) Allo-greffe phéno-identique (2023)	Clone connu : CD3+, CD4+, CD5+, CD7+, TCL1+						Polyclonal	Négatif		45,92	54,08	48,2	51,8	38,23	61,34	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	On ne détecte pas le clone T PL1 CD5+, CD7- et TCL1+	Négatif	Suivi négatif	Suivi T PL1 négatif
58	H	17	Ganglion	Suspicion	Lymphome		Adénopathies multiples Lymphome de Hodgkin	Biopsies ganglionnaires : lymphome de Hodgkin classique scléronodulaire (riche en cellules tumorales)	Négatif								52,7	47,3	53,05	46,95	43,85	55,59	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Non pathologique	Lymphome de Hodgkin
59	F	98	Sang	Suivi	Syndrome de Sézary		CH de Saint Junien						Cellules d'allure sézariforme				1,04	98,96	NA	NA	NA	NA	Présence d'un clone T anormale CD3+, CD2+, CD5+, CD7 faible, CD4+, CD10- et TRCB1 clonal représentant 92% des lymphocytes totaux	Positif	Présence d'un clone T CD3+, CD5+, CD7 faible, CD4+, CD10- et TRCB1 déséquilibré	Positif	Suivi positif	Syndrome de Sézary
60	F	75	Sang	Suspicion	Lymphopathie T		Éruptions cutanées associées à une anémie arégénérative CH de Saint-Yrieix-la-Perche										33,14	66,86	34,41	65,59	22,83	77,17	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Sous-populations lymphocytaires B, T et NK équilibrées en proportion. Pas de clone T décelable en CMF : ratio CD4/CD8 et taux de y6 normaux. Absence d'expression du CD10 sur les CD4. Absence de trou phénotypique sur les T et TRBC1 équilibré	Négatif	Non pathologique	
61	H	35	Moelle	Suivi	Rechute d'un lymphome T/NK extra-ganglionnaire de type nasal avec syndrome d'activation macrophagique									Polyclonal irrégulier	Négatif		36,07	63,93	39,53	60,28	32,5	67,5	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Suivi négatif	SAM
62	F	69	Sang				CH de Brive										44	56	45,59	54,41	34,16	65,84	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Sous-populations lymphocytaires B, T et NK équilibrées en proportion. Pas de clone T décelable en CMF : ratio CD4/CD8 et taux de y6 normaux. Absence d'expression du CD10 sur les CD4. Absence de trou phénotypique sur les T et TRBC1 équilibré	Négatif	Non pathologique	
63	H	48	Sang	Suspicion	Neutropénie ?	4				3,99	41,9	1,67					42,27	57,73	46,85	53,15	31,21	68,79	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Taux de NK estimé à 7% des LT totaux et prédominance de CD4 sans déséquilibre de TRCB1	Négatif	Non pathologique	
64	H	41	Sang	Suspicion	Hyperéosinophilie	4				11,68	33,7	3,94	Sézary positive				38,38	61,62	40,51	59,49	33,04	66,54	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Prédominance T CD4, sans trou phénotypique et sans déséquilibre de TRCB1	Négatif	Non pathologique	
18	H	75	Sang	Suivi	Syndrome hyperéosinophilique avec variant lymphoïde T d'expression cutanée			Biopsie cutanée (avant-bras droit) : dermatose spongiotique avec un infiltrat lymphocytaire dermique et épidermotrope suspect CD8+	Positif	8,14	20,6	1,68					95,63	4,37	NA	NA	NA	NA	Persistance de la population T anormale CD3 faible, CD2+, CD7+, CD5 faible, CD8+, CD10- et TRBC1 clonal représentant 10% des lymphocytes totaux	Positif	Restriction d'expression du TRBC1 sur les cellules T CD4+, CD10- en faveur de la persistance du clone T, comptant pour un peu moins de 10% des lymphocytes totaux	Positif	Suivi positif	Syndrome hyperéosinophilique avec variant lymphoïde T d'expression cutanée
65	H	74	Sang	Suivi	Leucémie prolymphocytaire T		T-PLL : CD3-, CD4+, CD5+, CD7+ et caryotype complexe Allo-greffe phéno-identique			5,77	19,4	1,12					35,43	64,57	40,02	59,98	26,32	73,68	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Population T globale avec ratio CD4/CD8 normal sans anomalie phénotypique sur les T. Les lymphocytes B en pourcentage un peu élevé, à rapporter à la NFS concomitante	Négatif	Suivi négatif	
66	F	24	Sang	Suspicion	Contrôle anomalies populations lymphocytaires												40,7	59,3	41,61	58,39	41,31	58,69	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Quasi disparition des LT CD8 expliquant le très fort déséquilibre du ratio CD4/CD8 dans un contexte de lymphopénie prononcée et sans déséquilibre de TRCB1	Négatif	Non pathologique	
18	H	75	Moelle	Suivi	Syndrome hyperéosinophilique avec variant lymphoïde T d'expression cutanée												95,29	4,71	NA	NA	NA	NA	Persistance de la population T anormale CD3 faible, CD2+, CD7+, CD5 faible, CD8+, CD10- et TRBC1 clonal représentant 15% des lymphocytes totaux	Positif	Présence d'une sous-population lymphocytaire T CD3+, CD8+, CD5 faible, CD7+ avec une restriction du TRCB1 à 95%, estimée à 33% des LT, en faveur du clone circulant. Sur ce prélèvement, les LT CD4 sont CD10- et ne présentent pas de restriction pour le TRCB1	Positif	Suivi positif	Syndrome hyperéosinophilique avec variant lymphoïde T d'expression cutanée
67	H	64	Moelle	Suivi	Lymphome T intestinal monomorphe épithélioïdique avec absence de lymphocytes intra-épithélioïaux		Allo-greffe géno-identique (2023)							1 pic monoclonal parmi un profil polyclonal	Positif	Positif	34,3	65,7	37,8	62,2	33,7	66,3	Pas de clone décelable en CMF sur cet échantillon	Négatif	Inversion du ratio CD4/CD8 dans un contexte de lymphopénie profonde, perte des marqueurs T et TRBC1 équilibre	Négatif	Suivi positif	Lymphome T intestinal monomorphe épithélioïdique

Annexe 6. Note d'information mise à jour panel T

 <p>Laboratoire du CHU de Limoges</p>	INFORMATION Enregistrement	LHEM QUA 0002 G
		Approuvé par : NATHALIE GACHARD RESP. QUALITE BIOLOGISTE RESP. CYTOGENETIQUE, BIO. MOL. THERAPIE CELL.
		Page 1/2

TITRE : Mise à jour Panel T

Bonjour,

Depuis un peu moins de deux semaines, le nouveau panel T incluant le marqueur **TRBC1** (TCR β -chain constant region 1) a été mis en routine.

Ce marqueur est aux lymphocytes T ce qu'est le Kappa/Lambda aux lymphocytes B.

En effet, une restriction ou monotypie d'expression de TRBC1 est volontiers en faveur d'un clone T.

Pour l'interprétation de ce marqueur, elle est pour l'instant **qualitative** : expression équilibrée, ou expression déséquilibrée.

Pour ce qui est d'une valeur chiffrée du rapport TRBC1+/TRBC1-, il est pour l'instant difficile de statuer. Je suis tombée sur deux sources

1 : population TRBC1pos >97% ou <3%

2 : population TRBC1pos >85% ou <15%

Je pense qu'il faut attendre un peu plus de littérature, et continuer le recrutement de patients dans le travail que l'on réalise avec Sarah Decheiver pour statuer sur de réelles valeurs que l'on pourra alors rendre (comme la valeur rendue sur le ratio LTCD4/CD8 ou encore le ratio Kappa/Lambda).

Patients « réactionnels » : nous avons testé 2 patients dits « réactionnels » avec des lymphocytes activés, on voit bien un profil activé dans les LT mais pas de déséquilibre TRBC1, et bien négatif en biologie moléculaire

En annexe, vous trouverez des exemples de patients que nous avons eu pour valider le panel.

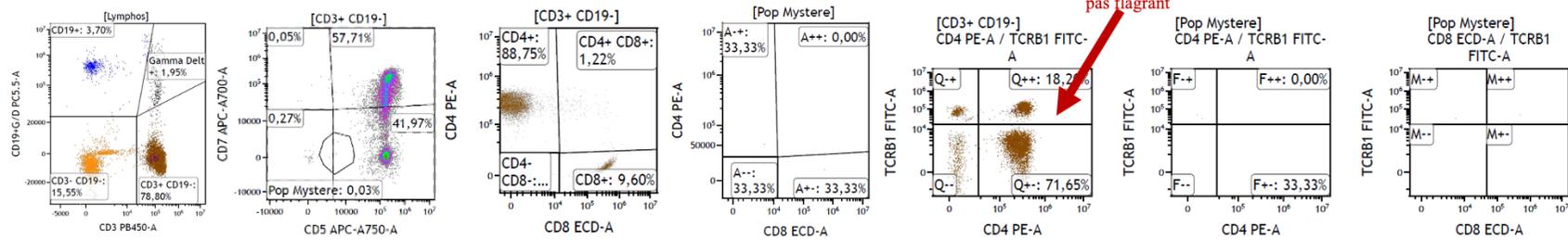
Je reste disponible pour tout complément d'information

PS : le protocole sur Kaluza est toujours en cours de fignotage, et le paramétrage informatique est en cours par Stéphane qui sera réalisé courant Septembre.

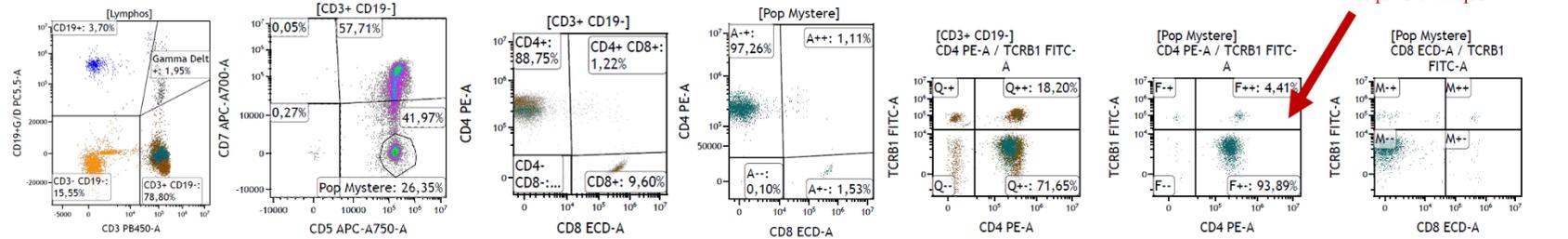
Sarah NASRADDINE

Date de diffusion : 05/09/2023

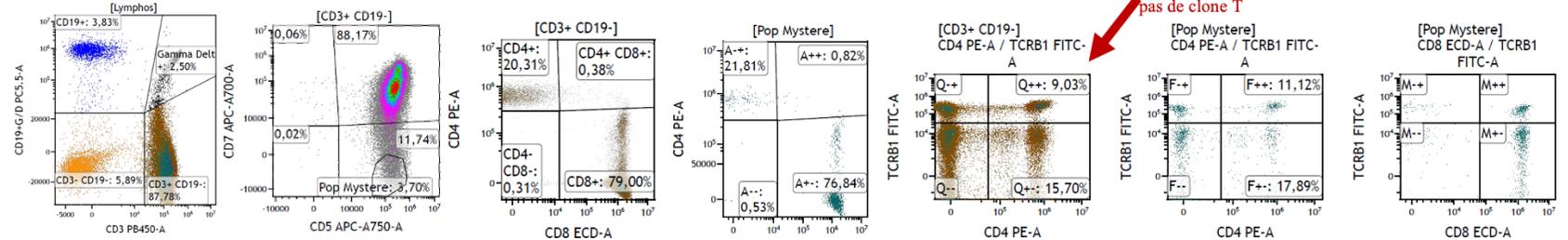
PATIENT 1 :
Avant retraitement



Après retraitement



PATIENT 2 : patient réactionnel (LT activés, neg en Biomol)



Serment De Galien

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

Mise en place de la détection de la monotypie du récepteur T par cytométrie en flux dans les syndromes lymphoprolifératifs T

Le diagnostic des syndromes lymphoprolifératifs T constitue depuis toujours un défi pour les cliniciens mais également pour les biologistes qui interprètent les examens prescrits dans ce contexte. En effet, cet ensemble de pathologies rares et hétérogènes regroupe à la fois des formes tissulaires, ganglionnaires, sanguines et médullaires caractérisées par la présence d'une population T clonale qu'il convient d'identifier pour établir le diagnostic de certitude de la pathologie. Pour cela des techniques d'anatomopathologie, de biologie moléculaire et de cytométrie en flux seront indispensables. Depuis l'avènement de cette dernière, de nouvelles perspectives sont apparues afin d'améliorer et d'accélérer le rendu de résultats clairs et informatifs pour le clinicien. Dans cet objectif, un panel de cytométrie en flux spécifique des lymphopathies T incluant un nouveau marqueur prometteur, TRBC1, a été développé au laboratoire d'hématologie du CHU de Limoges. Suite à l'analyse de la cohorte d'entraînement, le panel a pu être mis en production en routine puis, le retraitement de la cohorte d'étude a permis de définir des règles d'aide à la validation biologique de ce panel. Ainsi, ce travail a démontré les apports majeurs de l'ajout de TRBC1 au panel T classique dans la démarche diagnostic des hémopathies lymphoïdes T.

Mots-clés : syndromes lymphoprolifératifs T, TRBC1, cytométrie en flux

Implementation of T receptor clonality detection in T lymphoproliferative syndromes by flow cytometry

T lymphoproliferative disorders diagnosis has always been a challenge for clinicians, but also for the biologists who interpret tests prescribed in this context. This group of rare and heterogeneous diseases includes tissue, lymph node, blood, and bone marrow forms characterized by a clonal T population which needs to be identified in order to establish a definitive disease diagnosis. Therefore, anatomopathology, molecular biology and flow cytometry techniques are required. However, since the advent of flow cytometry, new opportunities have arisen to improve and accelerate the delivery of clear and informative results to clinicians. In that aim, a new flow cytometry panel including a promising new marker, TRBC1 was developed at Limoges University Hospital's hematology laboratory specifically for T lymphopathies. Following the analysis of the training cohort, the panel was put into routine production, and reprocessing of the study cohort enabled us to define rules to help with the biological validation of this panel. This work has demonstrated the major benefit of adding TRBC1 to conventional T panel in the diagnosis of T lymphopathies.

Keywords : T lymphoproliferative syndromes, TRBC1, flow cytometry

