

Découverte d'un lymphome B non hodgkinien suite à l'observation d'un satellitisme plaquettaire autour de lymphocytes atypiques

B-cell non-Hodgkin lymphoma discovery after observation of a platelet satellitism around atypical lymphocytes

Anne Gatignol

Marie Amirault

Éric Legac

Julien Decker

Laboratoire d'hématologie,
CHR d'Orléans, France
<anne.gatignol@etu.univ-tours.fr>

Résumé. Nous rapportons le cas d'une femme de 83 ans admise aux urgences pour une pneumopathie. La numération effectuée sur l'automate DXH (Coulter®TM UniCel® DxH) retrouvait une anémie normochrome normocytaire, une numération plaquettaire normale et une formule leucocytaire subnormale. La seule alarme émise par l'automate était la présence d'une basocytose. Un contrôle de la formule par cytométrie en flux et sur frottis a été réalisé. Il montrait l'absence de basocytose mais la présence d'une population lymphocytaire B (ratio T/B < 1 en cytométrie en flux) atypique monomorphe autour de laquelle s'agrégeaient les plaquettes. L'immunophénotypage lymphocytaire a permis de mettre en évidence la présence d'un clone B CD5+.

Mots clés : *lymphome B, satellitisme plaquettaire, basocytose, Hematoflow, cytométrie en flux, lymphocytes atypiques*

Abstract. We report the case of an 83-year-old woman admitted to the accident and emergency unit for pneumopathy. The blood cell count on the DXH automaton (Coulter®TM UniCel® DxH) found a normochromic and normocytic anemia, anormal platelet count and subnormal leukocyte formula. The only alarm raised by the automaton was the presence of a basocytosis. A control of the leukocyte count by flow cytometry and blood smear has been done. It revealed there was no basocytosis, but showed the presence of an atypical monomorphic lymphocytes B population (T/B < 1 ratio in flow cytometry), around which platelets aggregated. The lymphocytic immunophenotyping allowed us to highlight the presence of a CD5+ B clonal subpopulation.

Key words: *B lymphoma, platelet satellitism, basocytosis, Hematoflow, flow cytometry, atypical lymphocytes*

Article reçu le 03 novembre 2018,
accepté le 18 décembre 2018

L'observation

Une femme de 83 ans est admise aux urgences pour une suspicion de bronchopneumopathie dans un contexte de malaise avec perte de connaissance. Ses principaux antécédents sont une hypothyroïdie et une hypertension artérielle.

Un prélèvement de sang veineux est effectué sur tube éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) afin de réaliser une

numération formule sanguine (NFS) dans le cadre du bilan infectieux.

L'examen effectué par l'automate d'analyse cellulaire (Coulter® UniCel® DxHTM) met en évidence une discrète anémie normochrome normocytaire arégénérative (hémoglobine = 110 g/L, globules rouges = 3,67 G/L, hématocrite = 32,6 %), un taux de plaquettes normal (160 G/L) ainsi qu'une numération leucocytaire subnormale (leucocytes totaux = 10,3 G/L avec discrète polynucléose neutrophile à 8,4 G/L). L'automate signale une alarme « basocytose » avec un nombre de polynucléaires basophiles à 0,53 G/L soit 5,1 % des leucocytes. Les nuages sont

Tirés à part : A. Gatignol

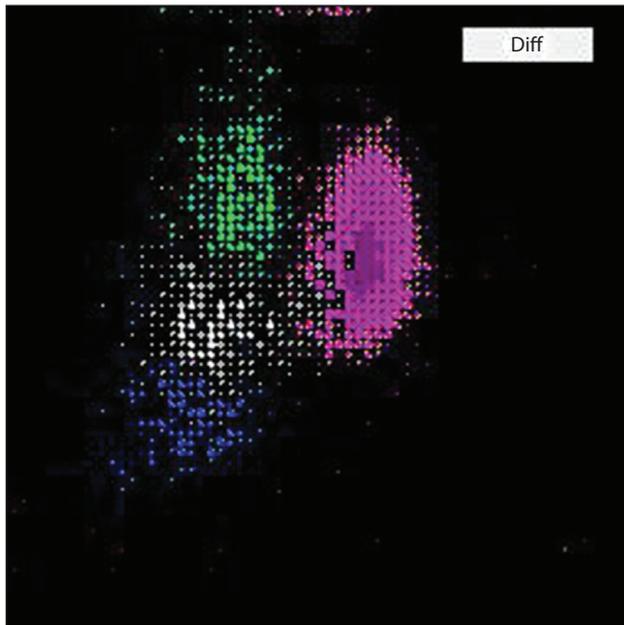


Figure 1. Visualisation des populations leucocytaires sur l'automate DHX (Coulter®TM UniCel® DxH) Technologie VCS (volume, conductivité, *scatter*) : ordonnée = volume ; abscisse = structure ; oblique = conductivité. Nuage bleu : lymphocytes ; nuage blanc : polynucléaires basophiles (PNB) ; nuage vert : monocytes ; nuage violet : polynucléaires neutrophiles (PNN).

homogènes, bien définis et bien séparés. Il n'y a aucune autre alarme signalée, en particulier de type « agrégats plaquettaires » (figure 1).

Dans notre centre, le DXH est paramétré pour déclencher une alarme « basocytose » lorsque le nombre de basophiles est supérieur à 0,3 G/L ou 3 %, ce qui impose une vérification de la formule leucocytaire par 2 méthodes : Hematoflow (automate FC500 Beckman Coulter) et lecture de frottis sanguin.

L'HematoflowTM est une solution automatisée qui associe un analyseur de numération formule sanguine à une cytométrie en flux pour effectuer le contrôle des formules anormales. Il est composé du CytoDiffTM qui correspond à un cocktail prêt à l'emploi constitué de 6 anticorps couplés à 5 fluorochromes (CD36-FITC, CD2-PE, CRTH2-PE, CD19-ECD, CD16-PC5, CD45-PC7). Les globules blancs marqués sont analysés par cytométrie en flux. Un logiciel automatisé permet d'identifier et de quantifier les différentes populations leucocytaires : neutrophiles, lymphocytes, monocytes, éosinophiles, basophiles, granuleux immatures, lymphocytes B, lymphocytes T, lymphocytes T cytotoxiques, blastes B, blastes T, monoblastes, blastes non B non T correspondant essentiellement à des myéloblastes. Les résultats obtenus avec l'Hematoflow sont surprenants pour plusieurs raisons : il n'est pas retrouvé de basocytose et il existe une proportion de lymphocytes B nettement

supérieure aux normes physiologiques avec un rapport T/B < 2. En effet, pour un nombre de lymphocytes totaux de 1,10 G/L, les lymphocytes B représentent 61,1 % et les lymphocytes T 38,9 %. Enfin, la disposition du nuage lymphocytaire B mature est atypique montrant un profil en « apostrophe » classiquement retrouvé dans des lymphomes B non hodgkiniens de type villeux (leucémie à tricholeucocytes, lymphome de la zone marginale...) (figure 2).

Le frottis sanguin a permis de confirmer l'absence de basocytose et de mettre en évidence la présence de lymphocytes atypiques de taille petite à moyenne, d'aspect mature, au rapport nucléocytoplasmique diminué, au noyau rond à chromatine dense, présentant parfois un nucléole. Leur cytoplasme est étendu, voire d'allure lymphoplasmocytoïde. De plus, il est observé la présence d'un satellitisme plaquettaire autour de ces mêmes lymphocytes, prédominant du côté opposé au noyau dans les formes lymphoplasmocytoïdes comme le montrent les images (A) et (D) et réparti de façon homogène autour de la cellule dans les autres cas. On note aussi sur les images (B) et (C) des encoches cytoplasmiques où se nichent les plaquettes (figure 3).

Ces lymphocytes atypiques représentent environ 60 % des lymphocytes totaux, soit 660/mm³ (valeur correspondant approximativement au nombre de polynucléaires basophiles détecté par l'automate DXH).

Un immunophénotypage lymphocytaire a été réalisé et a mis en évidence la présence d'une population clonale B CD5+ monotypique kappa (d'expression moyenne), CD79b et CD22+ fort, CD23+, FMC7+ (score de Matutes calculé à 2), CD43+, CD24+, CD20+ fort, IgM+ fort, IgD+, CD38+. Il n'y a pas d'expression de CD103, CD11c, CD25, CD180 et CD200. Cet immunophénotypage n'a pas permis d'affirmer un diagnostic précis et pouvait orienter soit vers un lymphome de la zone marginale, soit vers un lymphome lymphoplasmocytaire (expression du CD38, expression forte de l'IgM, population lymphoïde atypique d'allure lymphoplasmocytaire mais positivité du CD23 et du CD43), soit vers une LLC atypique (clone B CD5+ CD23+, CD43+, CD20+ fort, mais Matutes à 2).

La patiente est hospitalisée pour surveillance respiratoire durant 24 heures dans l'unité d'hospitalisation de courte durée et sera ensuite perdue de vue sans réalisation d'examen complémentaires (imagerie, électrophorèse des protéines...). Une démence débutante a également été évoquée lors de son hospitalisation.

Discussion

Il s'agit d'une découverte fortuite d'une lymphocytose B monoclonale ou de la dissémination sanguine d'un lymphome B non hodgkinien. Les signes cliniques (suspicion

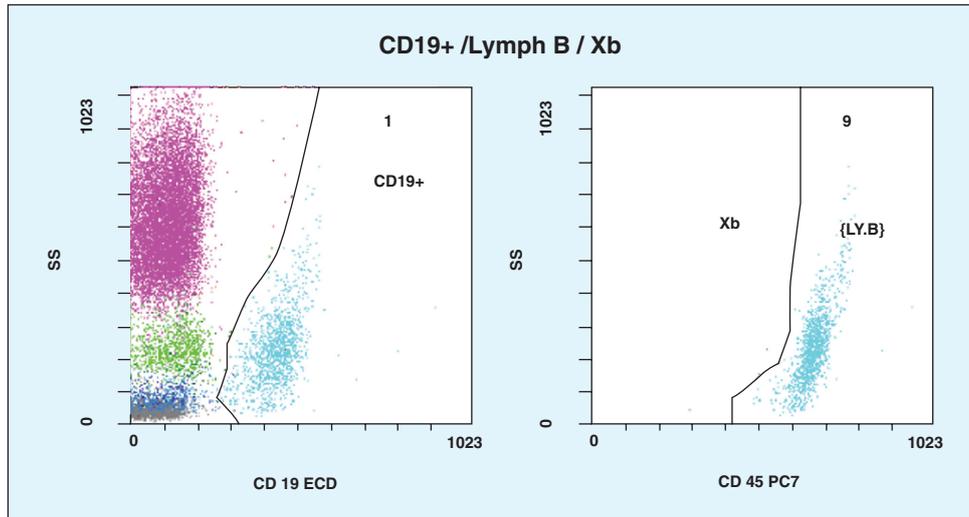


Figure 2. Hematoflow®, Beckman Coulter. À gauche : en rose : PNN ; en vert : monocytes, en bleu clair : lymphocytes B, en bleu foncé : lymphocytes T. À droite : nuage bleu clair en forme d'apostrophe : lymphocytes B matures CD45 +.

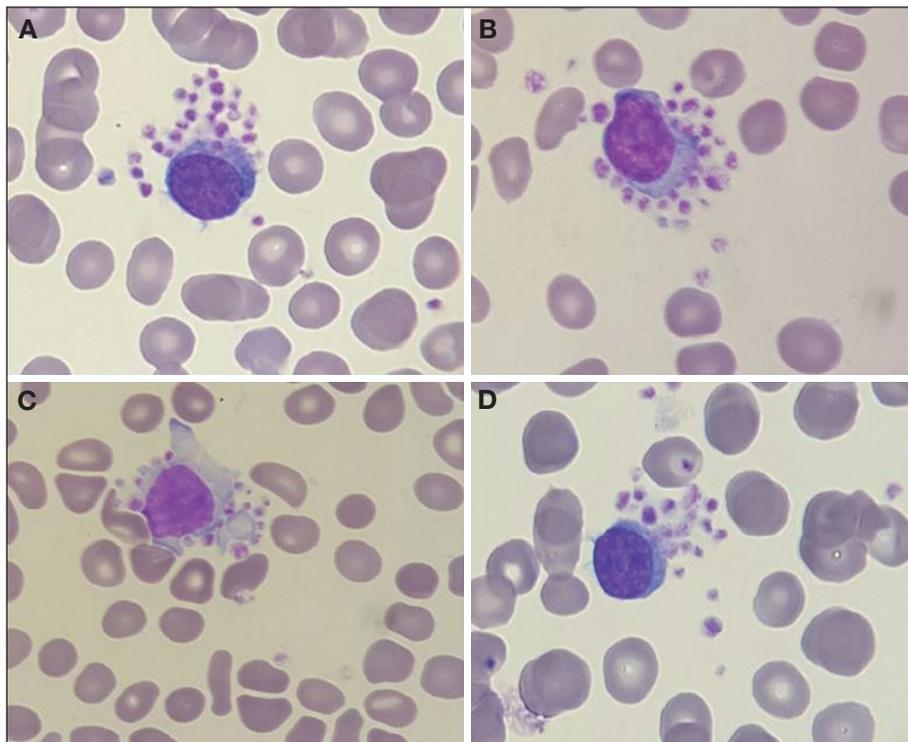


Figure 3. Aspects cytologiques au MGG, objectif x 100 : satellitisme plaquettaire autour de lymphocytes atypiques. **A** : Lymphocyte d'allure lymphoplasmocytoïde, le satellitisme plaquettaire est réparti principalement du côté opposé au noyau ; **B** : Lymphocyte présentant des encoches cytoplasmiques où se nichent les plaquettes ; **C** : Lymphocyte présentant des encoches cytoplasmiques où se nichent les plaquettes ; **D** : Lymphocyte d'allure lymphoplasmocytoïde.

de pneumopathie et absence d'adénopathie) et biologiques (anémie modérée probablement d'origine inflammatoire, nombre de lymphocytes et numération plaquettaire normaux) ne permettaient pas de suspecter ce diagnostic.

L'alarme « basocytose » sur l'automate de routine DXH et son association à un ratio lymphocytaire T/B < 1 sur la solution automatisée Hematoflow a entraîné la réalisation d'un frottis sanguin. Sur l'automate DXH, les agrégats de

plaquettes autour des lymphocytes ont été pris à tort pour des polynucléaires basophiles sur le graphe taille/structure. L'hématoflow a permis de corriger cette erreur (absence de basocytose en cytométrie en flux sur l'automate FC500), de dépister un excès de lymphocytes B et de nous orienter vers des cellules pathologiques (nuage en « apostrophe » en faveur d'un lymphome villeux). Cela montre l'intérêt non négligeable de cette technologie utilisée en routine autant sur le dépistage qu'en orientation diagnostique.

Le satellitisme plaquettaire autour de leucocytes est décrit essentiellement autour des polynucléaires neutrophiles (PNN) et dans de plus rares cas, autour de lymphocytes.

Le satellitisme plaquettaire autour des PNN est un phénomène rare mais bien connu, qui peut s'observer *in vitro* en présence d'EDTA. Il n'a aucun lien avec une pathologie hématologique. La première description a été faite en 1963 par Field et MacLeod [1] dans le sang périphérique collecté dans de l'EDTA. L'explication serait liée, d'une part au complexe glycoprotéique $\alpha\text{IIb}/\beta\text{IIIa}$ de la membrane des plaquettes qui est démasqué en présence d'EDTA et, d'autre part, à la présence d'auto-anticorps IgG dirigés contre un antigène cryptique commun au complexe $\alpha\text{IIb}/\beta\text{IIIa}$ des plaquettes et au récepteur Fc gamma III (CD16) des PNN [2].

Le satellitisme plaquettaire lymphocytaire est un phénomène beaucoup plus rare. Dans la littérature, ce dernier reste essentiellement décrit chez des patients atteints de lymphomes B non hodgkiniens (lymphome du manteau [3] et lymphome de la zone marginale [4]). Le plus souvent, la découverte de ce satellitisme est faite lors du contrôle d'une thrombopénie ou lors de la vérification d'une alarme de type « agrégats plaquettaires » sur un frottis sanguin. Dans notre cas, la numération plaquettaire est normale, mais l'automate signale une alarme sur la basocytose. Pour définir un satellitisme plaquettaire, Pichon *et al.* retenaient qu'au moins deux plaquettes de toute taille devaient être accolées à un lymphocyte d'allure pathologique [5].

Dans cet exposé, comme dans ceux publiés dans la littérature, les frottis réalisés à partir du tube EDTA montraient d'une part, que le satellitisme plaquettaire se faisait seulement autour de ces lymphocytes atypiques et, d'autre part, que les plaquettes étaient de taille normale et paraissaient nichées dans des encoches cytoplasmiques [6].

Dans un cas rapporté par Montague *et al.* [7], la technique de microscopie électronique à transmission permettait de mettre en évidence deux types de relations structurales entre les plaquettes et les lymphocytes atypiques : soit il s'agissait d'une apposition directe, soit il existait un petit espace d'environ 50 nm, nommé « écart intercellulaire », qui contenait des brins de faible densité d'électrons entourant les plaquettes. Ce phénomène de satellitisme plaquettaire autour des lymphocytes atypiques pourrait être expliqué par le fait que les lymphocytes tumoraux secréteraient une

immunoglobuline monoclonale capable de reconnaître des antigènes cryptogéniques plaquettaires exprimés en présence d'EDTA [6, 7].

Récemment, un autre phénomène encore jamais décrit a été observé par Zhu *et al.* lors de la découverte fortuite, suite à la vérification d'une formule sanguine au MGG, d'un satellitisme plaquettaire présent autour de fragments cytoplasmiques de lymphocytes B néoplasiques. L'hypothèse formulée de ce satellitisme est la présence de molécules de surfaces aberrantes sur les lymphocytes néoplasiques reconnues par les plaquettes [8].

L'immunophénotypage réalisé montrait dans chaque cas la présence de cellules lymphomateuses B CD5-.

Conclusion

Une vigilance particulière à l'examen du frottis sanguin doit être apportée à la reconnaissance de ce phénomène de satellitisme lymphocytaire, afin de proposer des explorations complémentaires. De plus, la présence d'une alarme basocytose rendue par l'automate DxH nécessite une vérification de la formule leucocytaire par un frottis sanguin car, dans notre cas, elle a été le seul argument conduisant à cette vérification.

Il serait informatif et important de vérifier que ce satellitisme n'est présent qu'autour des cellules lymphomateuses de LNH-B à petites cellules. Un signalement de cette particularité cytologique avec, si possible, la réalisation d'un immunophénotypage lymphocytaire devrait être réalisé dans chaque centre observant (ou constatant) ce phénomène. En effet, ce satellitisme serait prédictif du diagnostic de LNH-B à petites cellules, sans pour autant orienter vers un sous-type particulier.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Field EJ, MacLeod I. Platelet adherence to polymorphs. *BMJ* 1963 ; 2(5353) : 388.
2. Bizzaro N, Goldschmeding R, von dem Borne AE. Platelet satellitism is Fc gamma RIII (CD16) receptor-mediated. *Am J Clin Pathol* 1995 ; 103(6) : 740-4.
3. Cesca C, Ben-Ezra J, Riley RS. Platelet satellitism as presenting finding in mantle cell lymphoma. A case report. *Am J Clin Pathol* 2001 ; 115(4) : 567-70.
4. Vignon G, Aubrit S, Mottaz P, Carrere F, Augereau PF, Aucher P, *et al.* A new case of B cell lymphoproliferative disorder highlighted by platelet satellitism around lymphocytes. *Hématologie* 2015 ; 21(5) : 289-94.
5. Pichon M, Froehlich C, Callet-Bauchu E, Vila L. Lymphomes de la zone marginale : étude rétrospective de la fréquence de phénomène de lymphoagglutination et de satellitisme plaquettaire. *Recueil des*

communications du Groupe français d'hématologie cellulaire. Deauville, 2013 : abst A4.

6. Debourgogne A, Latger-Cannard V, Montagne K, Plénat F, Lecompte T. A marginal zone-B cell lymphoma revealed by platelet satellitism and lympho-agglutination phenomenon around atypical lymphocytes. *Ann Biol Clin* 2007 ; 65(3) : 287-90.
7. Montague N, Blackwelder P, Alsayegh H, Ochoa R, Vial X, Byrne GE. Platelet satellitism and dual surface immunoglobulin light-chain expression in circulating splenic marginal zone lymphoma cells. *Ann Diagn Pathol* 2013 ; 17(1) : 117-22.
8. Zhu J, Guo W. Platelet satellitism around cytoplasmic fragments of neoplastic lymphocytes. *Blood* 2018 ; 131(23) : 2599.