

Antoine Levasseur<sup>1</sup>, Maxime Delrue<sup>1</sup>, Floriane Devaux<sup>1</sup>, Ilhem Lenouar<sup>1</sup>, Brigitte Poirrot<sup>2</sup>, Jean-Marc Zini<sup>3</sup>, Caren Brumpt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Lariboisière, AP-HP, Paris ; <sup>2</sup> Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Hôpital Saint Louis; <sup>3</sup>- Service Clinique des maladies du sang, Hôpital Saint Louis, AP-HP, Paris

## Introduction

Individualisée en 1958 par B. A. Bouroncle sous le nom de réticuloendothéliose leucémique, la leucémie à tricholeucocytes, communément appelée HCL pour Hairy Cell Leukemia, est une entité bien définie dans la classification OMS 2016 des tissus hématopoïétiques et lymphoïdes. Maladie rare, elle représente 2% des leucémies lymphoïdes, son taux d'incidence annuel aux Etats-Unis est de 0,32 cas pour 100 000 habitants, soit 1240 nouveaux cas par an<sup>5</sup>. Elle survient, le plus souvent, chez des hommes (ratio hommes/femmes = 4/1), avec un âge médian de 63 ans<sup>1</sup>. Les critères diagnostiques sont basés sur l'identification de cellules d'aspect chevelues sanguines et/ou médullaires : les tricholeucocytes. L'examen par cytométrie en flux (CMF) des tricholeucocytes est nécessaire, ce sont des lymphocytes B mémoire activés qui expriment typiquement les marqueurs CD11c, CD25, CD103 et CD123<sup>1</sup>. En 2011, la mutation oncogénique du gène BRAF (BRAF<sup>V600E</sup>) a été mise en évidence dans 80-90 % des cas de HCL. Elle entraîne une activation constitutive de la voie de signalisation cellulaire des MAP-kinases : RAS-RAF-MEK-ERK, qui transmet les signaux extracellulaires de croissance à partir de la membrane cytoplasmique vers le noyau. Le myélogramme et parfois la biopsie ostéomédullaire sont importants pour évaluer l'infiltration médullaire.

Cliniquement, la maladie peut être reconnue devant une asthénie, une splénomégalie ou des épisodes infectieux à répétitions.

La HCL fait partie des hémopathies malignes de bon pronostic avec une survie nette standardisée à 5 ans de 95 %. Son étiologie reste à ce jour inconnue. Le risque de cancers secondaires est plus élevé, notamment celui de survenue d'une autre hémopathie maligne, et justifie le besoin d'une surveillance hématologique prolongée<sup>2</sup>. Nous rapportons un cas de diagnostic fortuit sur une NFS prescrite pour une demande d'assurance chez un patient âgé de 60 ans.

## Histoire de la maladie

Hémogramme réalisé de façon systématique dans le cadre d'une demande d'assurance, découverte fortuite d'une bicytopenie modérée isolée avec : Plaquettes : 80 G/L ; Neutrophiles : 1 G/L.

## Interrogatoire

**Antécédents** : infection SARS-CoV-2 sans critère de gravité (prise en charge ambulatoire en mars 2020 et une dose de vaccin Pfizer début 2021), avulsion des dents de sagesse non compliquée (dans l'enfance).

**Traitement et allergies** : RAS.

## Examen clinique

70 kg ; sans particularité hormis une splénomégalie à trois travers de doigts en inspiration profonde.

## Examens complémentaires

**NFS** : Leucocytes : 1,7 G/L ; Hémoglobine : 14,5 g/dL ; VGM : 95,1 fL ; Plaquettes : 78 G/L ; PNN : 0,88 G/L ; Lymphocytes : 0,71 G/L ; Monocytes : 0,05 G/L.

**Frottis sanguin** : présence de très rares tricholeucocytes, persistance de monocytes (photo 1).

**Hémostase** : normale

**Ionogramme sanguin / Créatinine / Bilan hépatique** : normaux

**Sérologie hépatite B** : profil vaccinal.

**Immunophénotypage des lymphocytes sanguins** : présence d'une population monoclonale B lambda représentant 3% des lymphocytes sanguins (soit 20 tricholeucocytes /mm<sup>3</sup>).

Ils expriment fortement le CD20 et le CD22, et sont CD103+ ; CD25+ ; CD11c+ ; CD123+ confirmant le diagnostic cytologique de leucémie à tricholeucocytes (photo 2).

**Myélogramme** : envahissement médullaire des tricholeucocytes, à chromatine lâche, à fines projections cytoplasmiques et représentant 14% des éléments (photos 3).

**Immunophénotypage médullaire** : mise en évidence d'une population monotypique B exprimant une chaîne légère lambda représentant 32% des lymphocytes, d'expression similaire à l'immunophénotypage sanguin, en faveur d'une leucémie à tricholeucocytes.

**Biologie moléculaire** : PCR spécifique d'allèle : présence possible à faible fraction allélique de la mutation activatrice c.1799T>A / p.(Val600Glu) - (p.V600E) sur l'exon 15 du gène BRAF : résultat douteux.

Le séquençage de nouvelle génération (NGS) a confirmé la présence de la mutation c.1799T>A / p.(Val600Glu) - (p.V600E) avec une fréquence allélique de 3% dans cet échantillon. De façon plus inattendue, les molécules d'ADN mutées p.V600E sont également porteuses d'un variant c.1834C>G/p.(Gln612Glu) (=p.Q612E) toujours sur l'exon 15 de BRAF jamais décrit dans la littérature ou les bases de données et classé variant de signification inconnue en l'état actuel des connaissances.

**Caryotype** : absence d'anomalie chromosomique clonale détectable dans les 21 mitoses analysables (analyse en culture lymphoïde B).

**Scanner thoracoabdominopelvien** : pas d'adénopathies, splénomégalie évaluée à 15 cm.

## Traitement - Évolution

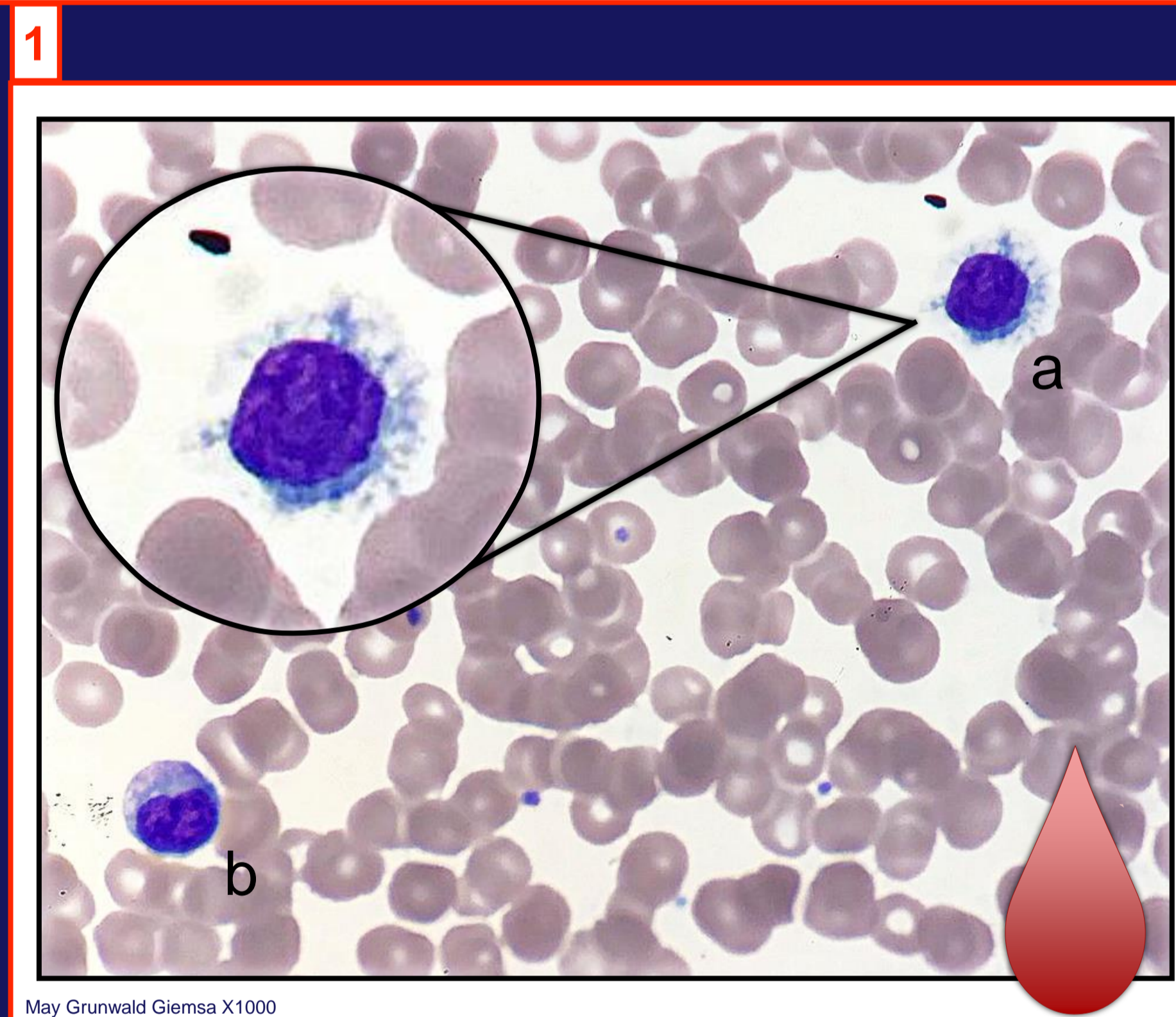
**Réunion de concertation pluridisciplinaire** : indication thérapeutique devant la présence de cytopénies significatives (thrombopénie 70-80 G/L et neutropénie 0.8-0.9 G/L).

Le traitement de première ligne consiste en l'association de la cladribine (0,15 mg/kg, 5 jours par voie IV) à du rituximab (375 mg/m<sup>2</sup>, hebdomadaire, 8 perfusions au total) selon les recommandations du groupe FILO et la publication de Chihara JCO 2020<sup>6</sup>. Le patient suspend sa demande d'assurance.

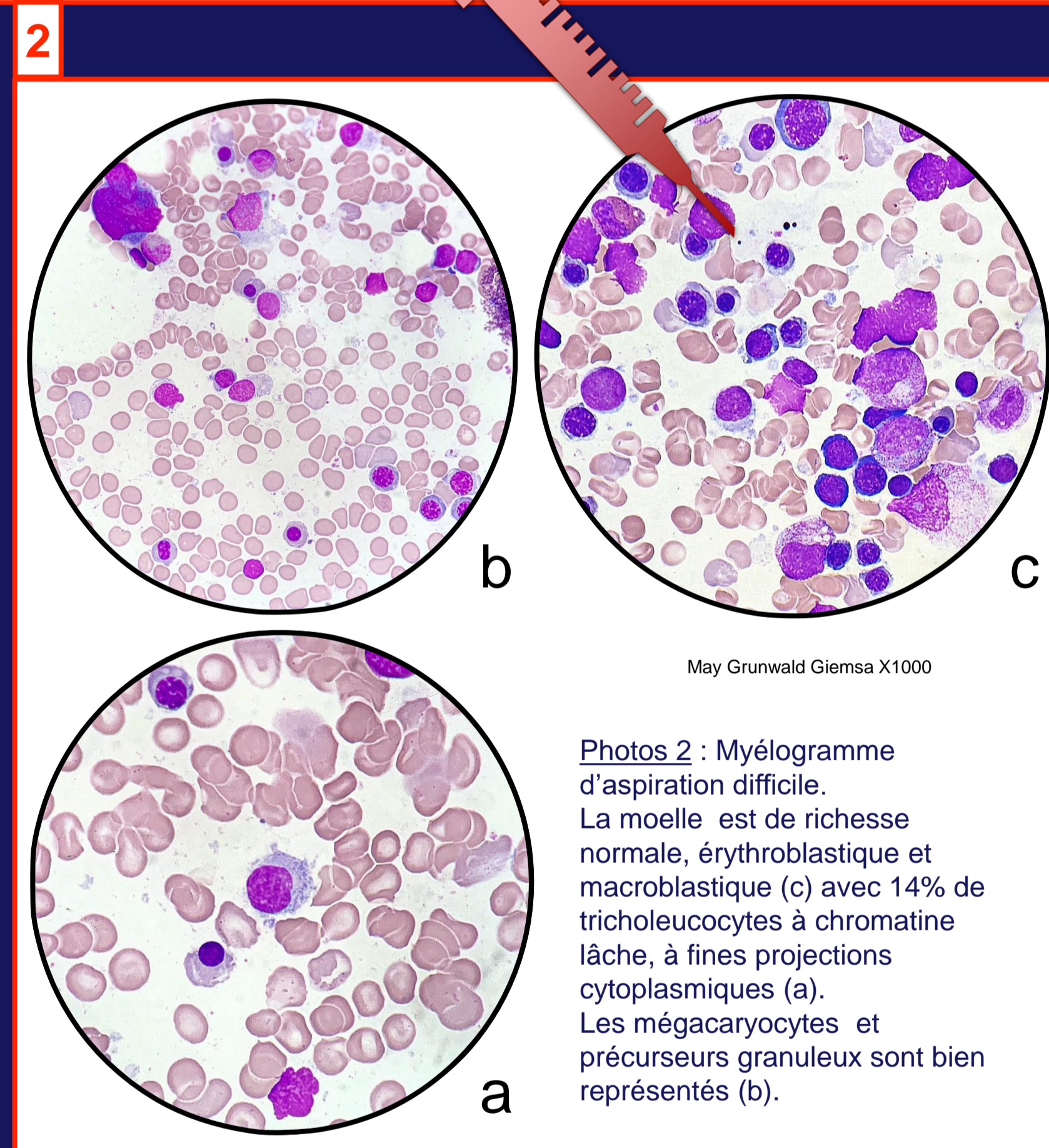
## SCORE IMMUNOLOGIQUE<sup>3</sup> proposé pour le diagnostic cytométrique de l'HCL

fondé sur l'expression de quatre marqueurs :  
CD103, CD11c, CD25 et CD123.

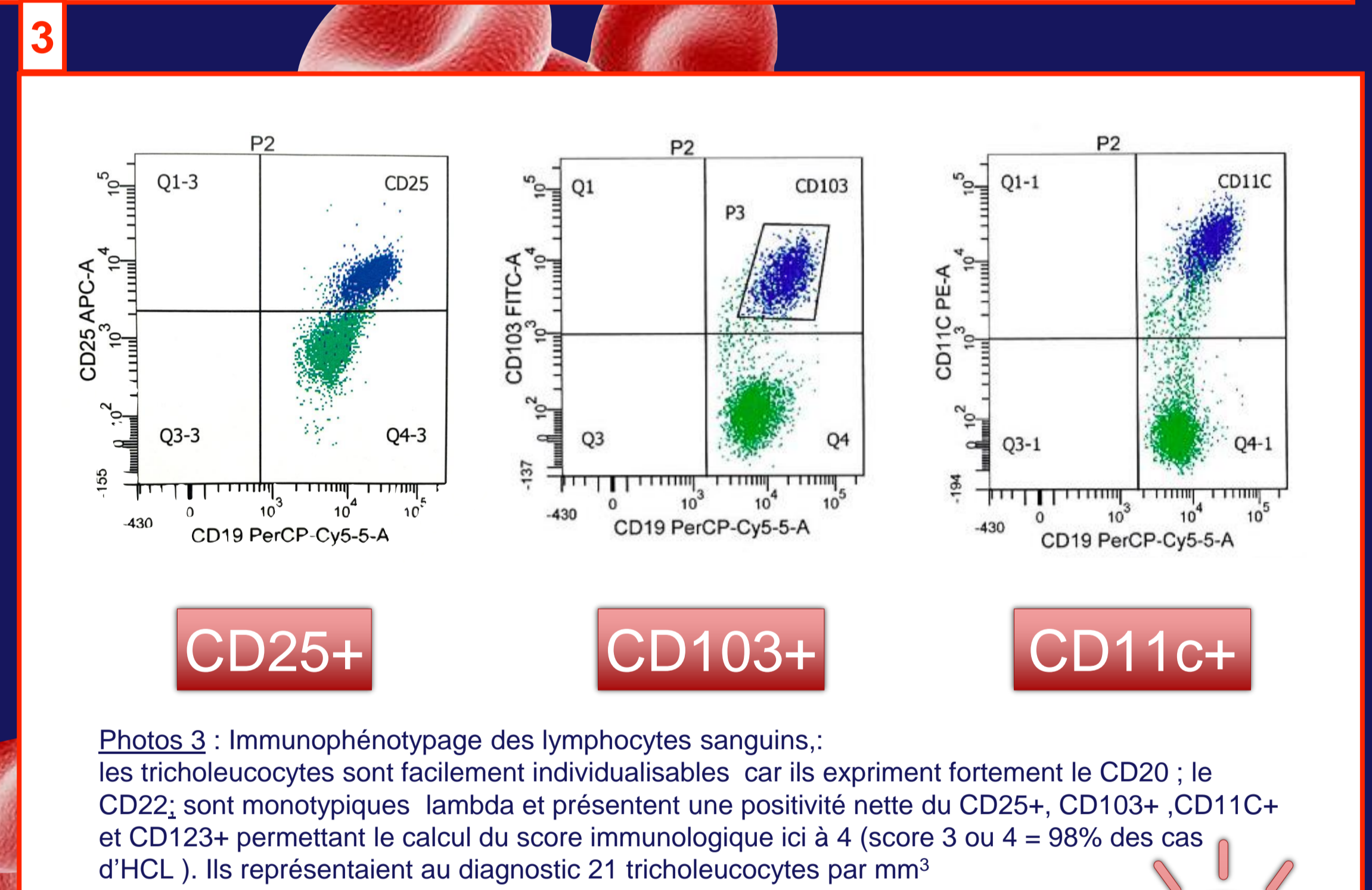
Un point est attribué pour une expression positive et 0 point, pour une expression négative. Quarante-vingt-dix-huit pourcent des cas de HCL ont un score à 3 ou 4.



**Photos 1** : Frottis sanguin mettant en évidence de rares tricholeucocytes (inférieurs à 1%) en faveur d'une leucémie à tricholeucocytes ; avec la persistance de rares monocytes (b).



**Photos 2** : Myélogramme d'aspiration difficile. La moelle est de richesse normale, érythroblastique et macroblastique (c) avec 14% de tricholeucocytes à chromatine lâche, à fines projections cytoplasmiques (a). Les mégacaryocytes et précurseurs granuleux sont bien représentés (b).



**Photos 3** : Immunophénotypage des lymphocytes sanguins : les tricholeucocytes sont facilement individualisables car ils expriment fortement le CD20 ; le CD22 ; sont monotypiques lambda et présentent une positivité nette de CD25+ ,CD103+ ,CD11c+ et CD123+ permettant le calcul du score immunologique ici à 4 (score 3 ou 4 = 98% des cas d'HCL). Ils représentaient au diagnostic 21 tricholeucocytes par mm<sup>3</sup>

## Discussion

- La spécificité de l'aspect cytologique du tricholeucocyte a permis le diagnostic immédiat de HCL malgré leur faible circulation sanguine (20 par mm<sup>3</sup>) et la persistance de monocytes. Sur le frottis sanguin les cellules tumorales sont de grande taille, à faible rapport nucléocytoplasmique, à cytoplasme étendu, faiblement basophile avec de fines projections cytoplasmiques, avec typiquement des inclusions granulomallaires. Le noyau est souvent excentré, parfois réniforme., à chromatine finement dispersée, avec un nucléole de petite taille et peu visible.

- L'HCL est une hémopathie idéale pour le diagnostic et le suivi en cytométrie en flux (CMF) car son phénotype est typique : haut niveau d'expression du CD19, CD20 et CD22 ; expression fréquente des intégrines CD11c et CD103 ; du récepteur à l'interleukine (IL)2 (CD25) et du CD123 (récepteur à l'IL3). Des variations phénotypiques existent avec la positivité du CD5, CD23 ou CD10 ; ou l'absence d'expression du CD103 ou CD25.

- En biologie moléculaire, la mise en évidence de la mutation oncogénique BRAF<sup>V600E</sup> a nécessité un NGS. La fréquence allélique de 2,7% souligne la faible charge tumorale au moment du diagnostic. La découverte d'un variant p.Q612E, toujours sur l'exon 15 de BRAF, est à notre connaissance la première description, et est de *facto* de signification clinique inconnue.

-Le traitement est à initier en cas de maladie active définie : par une splénomégalie symptomatique, des infections sévères ou répétées ; une anémie (Hémoglobine <11 g/dl) ; une thrombopénie (Plaquettes <100 G/L) ; une neutropénie (Polynucléaires neutrophiles <1 G/L)<sup>2</sup>. Notre patient présentait une neutropénie et une thrombopénie, posant l'indication thérapeutique.

- Le traitement standard de première intention, introduit dans les années 1990 est un des plus grand succès thérapeutique de l'histoire des cancers. C'est un traitement à agent unique avec un analogue des purines (ANP), soit le 2-chlorodesoxyadénosine (2-CdA ou cladribine), soit la pentostatine<sup>5</sup>. Il permet dans la plupart des cas une longue survie globale en première ligne avec des rémissions complètes de 70 à 90% des cas en première lignes et des survies sans traitement supérieures à 10ans<sup>1</sup>. Il n'existe à ce jour dans la littérature aucune preuve de la supériorité d'un des deux médicaments par rapport à l'autre<sup>2</sup>.

Deux situations particulières posent problème à l'instauration de ces ANP : l'infection fébrile, et la femme enceinte. Les tentatives de contrôle de l'infection doivent être poursuivies avant d'instituer l'ANP ; cependant, s'il n'est pas possible de contrôler l'infection, l'utilisation d'interféron alpha (IFN-α) pourrait être nécessaire, et ce de façon transitoire, alternative intéressante également chez la femme enceinte<sup>2</sup>. De plus, contrairement aux ANP, les inhibiteurs de BRAF (BRAFI) comportent moins de risque de myélosuppression. Trois cas de patients atteints de HCL et présentant des infections potentiellement mortelles après un traitement par ANP ont été rapportés, ils ont reçu un traitement par BRAFI (vemurafenib), ce qui a entraîné une normalisation des cytopénies<sup>4</sup>.

Pour les patients présentant une HCL nouvellement diagnostiquée, le traitement avec un ANP tel que la cladribine ou la pentostatine est classique ; la première est préférée pour terminer le traitement dans les 5 à 7 jours, et la seconde est avantageuse si l'on préfère un traitement plus progressif avec une réduction de la dose initiale. Pour éliminer précocement la maladie résiduelle minime, une alternative expérimentale de première ligne est la cladribine associée à un traitement différé ou simultané par le rituximab<sup>5</sup>. Depuis 2020 le traitement de choix de première ligne est devenu cladribine 0.15mg/kg/j J1-J5 et rituximab 8 injections hebdomadaires à 375mg/m2 (début J1)<sup>6</sup>.

Les options expérimentales évitant la chimiothérapie comprennent principalement : le moxetumomab pasudotox, qui cible le CD22 ; le vemurafenib ou le dabrafenib, qui ciblent chacun la protéine BRAF V600E ; le trametinib, qui cible l'enzyme protéine kinase activée par les agents mitogènes (MEK) ; et l'ibrutinib, qui cible la tyrosine kinase de Bruton (BTK)<sup>5</sup>.

## Conclusion

Ce cas clinique illustre le diagnostic actuel souvent fortuit de l'HCL ainsi que la rapidité et fiabilité du diagnostic cytologique et immunophénotypique qui permettent habituellement de s'affranchir de la biopsie ostéo-médullaire.

C'est à notre connaissance le premier cas décrit d'HCL présentant concomitamment : une mutation de BRAF<sup>V600E</sup> et un variant de BRAF<sup>Q612E</sup> jamais décrit dans la littérature, de signification inconnue en l'état actuel des connaissances qui méritera un suivi et une évaluation sur le long terme.

Concernant le traitement, ce cas apporte une illustration concrète des nouvelles recommandations concernant l'association ANP et rituximab.

## Bibliographie :

- 1-WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC 2017
- 2-Hairy cell leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification, and treatment ; E. Maitre et al Am J Hematol. 2019;94:1413-1422.
- 3-The immunophenotype of hairy cell leukemia (HCL). Proposal for a scoring system to distinguish HCL from B-cell disorders with hairy or villous lymphocytes E. Matutes et al., Leuk Lymphoma 1994
- 4-Classic hairy cell leukemia complicated by pancytopenia and severe infection: a report of 3 cases treated with vemurafenib ; D. Shenoi ; bloodadvances ; 3 : 116-118, 2019.
- 5- Update on Hairy Cell Leukemia ; R. Kreitman ; Clinical Advances in Hematology & Oncology ; 16 : 205-215, 2018
- 6-Randomized phase II study of first-line Cladribine with concurrent or delayed rituximab in patients with HCL. Chihara D. J.Clin.Oncol 38: 1527-1538 2020