

11 Leucémie lymphoïde chronique

11-01 Résultats finaux de l'étude de phase IIIb GREEN évaluant obinutuzumab seul ou associé à une chimiothérapie chez des patients atteints de leucémie lymphoïde chronique non précédemment traités (fit ou unfit) ou en rechute/réfractaires

V. Leblond^{*1}, F. Bosch², S. Stiglenbauer³, O. Ilhan⁴, J. Kisro⁵, B. Mahé⁶, E. Mikuskova⁷, D. Osmanov⁸, G. Reda⁹, E. Tausch¹⁰, M. Wójtowicz¹¹, T. Perretti¹², M. Van Hoef¹², R. Foa¹³

¹ Hématologie clinique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris ; ² Hématologie, University Hospital Vall d'Hebron, Barcelone, Espagne ; ³ Department of Hematology, University of Ulm, Ulm, Allemagne ; ⁴ Hématologie, Ankara University, Ankara, Turquie ; ⁵ Onkologische Schwerpunktpraxis Lübeck, Onkologische Schwerpunktpraxis Lübeck, Lübeck, Allemagne ; ⁶ Hématologie, Hôtel-Dieu, Nantes ; ⁷ Hématologie, National cancer Institute, Bratislava, Slovaquie ; ⁸ Blokhin cancer research Center Under the Russian Academy of Medical Sciences, Blokhin Cancer Research Center under the Russian Academy of Medical Sciences, Moscou, Fédération de Russie ; ⁹ Uoc ematologia, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico - Clinica Regina Elena, Milano, Italie ; ¹⁰ Hématologie, Ulm University, Ulm, Allemagne ; ¹¹ Szpital Wojewódzki, Szpital Wojewódzki, Opole, Pologne ; ¹² F. Hoffmann-La Roche Ltd, F. Hoffmann-La Roche AG, Basel, Suisse ; ¹³ Hématologie, Sapienza Università de Rome, Roma, Italie

Introduction. Obinutuzumab (GA101 ; G) a une efficacité reconnue dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC). Dans l'analyse primaire de l'étude de phase IIIb GREEN (NCT01905943) non randomisée, ouverte, simple bras, G seul ou associé à une chimiothérapie a eu un profil de tolérance acceptable en 1^{re} ligne (1L ; fit et unfit) et chez les patients (pts) atteints de LLC en rechute ou réfractaires (R/R). Nous rapportons ici les données finales d'efficacité et de tolérance.

Patients et méthodes. Les patients en 1L fit (CIRS \leq 6, CrCl \geq 70 mL) ou unfit (CIRS $>$ 6 et/ou CrCl $<$ 70 mL/min), et en R/R avec LLC documentée et un ECOG 0-2, ont reçu 1 000 mg de G (au jour J1), 8 et 15 du cycle (C)1, et J1 de C2-6 (six cycles de 28 J), en monothérapie (pts fit ou unfit, G-mono) ou en association avec chimiothérapie choisie par l'investigateur (fludarabine et cyclophosphamide [G-FC ; pts fit] ; chlorambucil [G-Clb ; pts unfit] ; ou bendamustine [G-Benda ; tout pts]). La tolérance était le critère principal. Le meilleur taux de réponse globale (MRG), la réponse complète (RC), la RC avec récupération incomplète au niveau de la moelle osseuse (RCi), la réponse partielle (RP), la durée de réponse (DdR), la survie sans progression (SSP), la survie globale (SG), le temps jusqu'à nouveau traitement (TJNT) et la MRD SG (sensibilité 10⁻⁴) étaient les critères d'efficacité secondaires.

Résultats. 972 pts ont été inclus (63,5 % homme ; âge moyen [intervalle] 65,4 [33-90] ans ; temps médian d'observation 43,7 [0,3-59,2] mois) et 630 pts ont reçu une 1L de traitement LLC (340 fit, 290 unfit ; un pt unfit inclus mais jamais traité), et 341 avaient une LLC R/R ; 658/971 pts (1L LLC : 488/630 [77,5 %] ; LLC R/R : 170/341 [49,9 %]) ont terminé l'étude. Aucune nouvelle toxicité n'a été décrite. Des événements indésirables (EI) de grade (Gr) \geq 3 ont été rapportés chez 82,7 % des pts LLC 1L et 84,5 % des pts LLC R/R ; 58,1 % et 62,5 % des pts, respectivement, ont eu un EI grave. Les EIs de Gr 3-5 les plus fréquents étaient la neutropénie (50,5 % 1L, 53,4 % R/R) et la thrombocytopénie (14,6 % 1L, 19,1 % R/R). Les EIs non hématologiques les plus fréquents étaient les infections (tout Gr : 57,6 % 1L, 61,3 % R/R ; Gr 3-5 : 21,7 % 1L, 30,8 % R/R) et les nausées (tout Gr : 27,9 % 1L, 27,6 % R/R ; Gr 3-5 : 0,8 % 1L, 1,2 % R/R). En fonction des traitements reçus (G-FC ; G-B, G-Clb et G) ; la MRD était de 70,8 ; 64,2 ; 9,4 et 16 % en 1L et 51,5 ; 39,8 ; 6,3 et 4,12 % en RR, la DdR de NA (non atteint) ; 35 ; 28,1 et 32 mois en 1L et 21,2 ; 25,5 ; 12,3 et 15 mois en R/R, la SSP de NA ; 58 ; 31,8 ; 30,2 mois en 1L et de 24,8 ; 28,6 ; 14,1 ; 17,6 mois en R/R et le TJNT de NA ; NA ; 53,7 et NA mois en 1L et de 32,6 ; 38,3 ; 20,4 et 22,5 mois en R/R. La SG médiane n'a été atteinte dans aucun bras. Comparé aux pts LLC R/R, les pts LLC 1L avaient une MRD indétectable pendant une durée médiane plus longue, à l'exception de G-mono (bras avec chimiothérapie : 16,3-18,2 vs 10,3-13,6 mois ; G-mono : 10,1 vs 10,2 mois) ; les groupes G-Benda et G-FC avaient une proportion élevée de MDR indétectable lors de l'évaluation finale de la réponse dans le sang périphérique et la moelle osseuse. Les facteurs influençant la SSP de manière positive sont le traitement par G-B, G-FC un statut du gène des immunoglobulines (IGHV) mutés, une del(13q) et une trisomie 12. La del

(11q), del(17p) et IGHV non mutés influencent quant à eux négativement la SSP.

Conclusion. Aucune nouvelle toxicité n'a été décrite. G a un rapport bénéfice/risque favorable dans la LLC à la fois en 1L et R/R, quelle que soit la chimiothérapie. Les pts avec trisomie 12q, del(13q) et IGHV mutés avaient une SSP plus favorable vs pts del(11q), del(17p) et IGHV non mutés.

11-02 Résultats finaux à cinq ans après mise à jour d'une étude de phase 3 (HELIOS) portant sur l'ibrutinib plus bendamustine et rituximab (BR) chez des patients atteints d'une leucémie lymphoïde chronique/lymphome lymphocytaire rechute/réfractaire

MS. Dillhuydy^{*1}, G. Fraser², A. Chanan-Khan³, F. Demirkan⁴, R. Santucci Silva⁵, S. Grosicki⁶, A. Janssens⁷, J. Mayer⁸, N. Bartlett⁹, J. Loscertales¹⁰, A. Avigdor¹¹, S. Rule¹², O. Samoilova¹³, M. Pavlovsky¹⁴, M. Hallek¹⁵, M. Salman¹⁶, M. Tamegnon¹⁷, S. Sun¹⁸, A. Connor¹⁹, K. Nottage¹⁷, S. Balasubramanian²⁰, A. Howes²¹, P. Cramer²²

¹ Hématologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux ; ² Hematology, Juravinski Cancer Centre, Hamilton, Canada ; ³ Hematology, Mayo Clinic, Jacksonville, États-Unis ; ⁴ Hematology, Dokuz Eylül Üniversitesi, Izmir, Turquie ; ⁵ Hematology, Hemomed Instituto de Oncologia e Hematologia, São Paulo, Brésil ; ⁶ Haematology, Department of Cancer Prevention, School of Public Health, Medical University of Silesia, Katowice, Pologne ; ⁷ Hématologie, UZ Leuven, Leuven, Belgique ; ⁸ Hematology, University Hospital brno, Brno, République Tchèque ; ⁹ Department : Medicine, Washington University School of Medicine and Siteman Cancer Center, Saint-Louis, États-Unis ; ¹⁰ Hematology, Hospital Universitario La Princesa, Madrid, Espagne ; ¹¹ Hematology, chaim sheba Medical Center, Tel-Aviv, Israël ; ¹² Hematology, Derriford Hospital, Plymouth, Royaume Uni ; ¹³ Hématologie, Hôpital clinique régional de Nizhny Novgorod, Novgorod, Fédération de Russie ; ¹⁴ Département d'hématologie, Fundaleu, Buenos Aires, Argentine ; ¹⁵ Department i of Internal Medicine and Center of integrated Oncology cologne bonn, University Hospital Cologne, Cologne, Allemagne ; ¹⁶ Research and Development, Janssen Pharmaceuticals, Raritan, États-Unis ; ¹⁷ Research and Development, Janssen, Raritan, États-Unis ; ¹⁸ Hematology, Janssen Research and Development, Raritan, États-Unis ; ¹⁹ Research and development, Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development, Spring House, États-Unis ; ²⁰ Research and Development, Janssen, Spring House, États-Unis ; ²¹ Hematology, Janssen Research and Development, High Wycombe, Royaume Uni ; ²² Hematology, University of Cologne, Köln, Allemagne

Introduction. L'ibrutinib, un inhibiteur oral de la tyrosine kinase de Bruton, nouvelle classe thérapeutique, administré par voie orale, une fois par jour, a bouleversé le traitement des patients adultes atteints de leucémie lymphoïde chronique (LLC)/lymphome lymphocytaire (LL). HELIOS (NCT01611090) est une étude de phase 3, randomisée, en double aveugle, contre placebo portant sur bendamustine et rituximab (BR) + ibrutinib versus placebo + BR chez des patients atteints de LLC/LL en rechute/réfractaire (R/R). Nous rapportons ici les résultats de l'analyse finale d'HELIOS à cinq ans.

Patients et méthodes. Les patients atteints de LLC/LL R/R sans del(17p) (n = 578) ont été randomisés selon un rapport de 1:1 pour recevoir de l'ibrutinib (420 mg par jour, n = 289) ou un placebo (n = 289), chacun en association à \leq 6 cycles de BR. Après l'analyse intermédiaire préspecifiée, le traitement par placebo, ainsi que le signallement des événements indésirables associés au traitement (EIAT) dans le bras placebo ont été arrêtés le 10 mars 2015 ; les patients du bras placebo ont cessé leur traitement, ils ont bénéficié d'une évaluation de la maladie et d'un suivi et ont reçu un traitement par l'ibrutinib en cas de progression confirmée de la maladie. Les critères d'évaluation incluaient la SSP évaluée par l'investigateur (critère principal), la survie globale (SG), le taux de réponse globale (TRG) et la sécurité d'emploi. Les données d'efficacité sont présentées pour la population en intention de traiter.

Résultats. Dans cette analyse finale, le suivi médian était de 63,7 mois (IC à 95 %, 62,8 à 64,3) et la durée médiane de traitement par ibrutinib en monothérapie était de 55,7 mois (écart, 0,2 à 72,9). La SSP médiane dans le bras ibrutinib était de 65,1 mois (n = 289) ; significativement plus longue que la SSP médiane des patients dans le bras placebo (médiane,

14,3 mois ; $n = 289$; HR [IC à 95 %], 0,229 [0,183 à 0,286] ; $p < 0,0001$). Le bénéfice en SG des patients dans le bras ibrutinib vs placebo a été maintenu à cinq ans, malgré le passage de 183 patients (63,3 %) du bras placebo au bras ibrutinib (RR [IC à 95 %], 0,611 [0,455 à 0,822] ; $p = 0,0010$). La SG médiane n'a été atteinte dans aucun des bras ; le taux de SG à 60 mois était de 75,7 % pour l'ibrutinib +BR versus 61,2 % pour le placebo+BR. Le TRG était de 87,2 % pour l'ibrutinib+BR vs 66,1 % pour le placebo+BR ($p < 0,0001$). Les réponses se sont approfondies au fil du temps ; le taux de réponse complète/réponse complète avec récupération incomplète de la moelle osseuse dans le bras ibrutinib+BR a augmenté de 21,5 % dans l'analyse initiale à 38,1 % dans l'analyse à trois ans et à 40,8 % dans l'analyse finale. Les EIAT dans le bras ibrutinib+BR étaient cohérents avec ceux des analyses précédentes. Dans l'ensemble, 90,2 % ont présenté des EIAT de grade ≥ 3 , 86,8 % ont présenté des EIAT reliés au traitement, 69,0 % ont présenté des EIAT graves et 20,2 % ont présenté des EIAT aboutissant à l'arrêt de l'ibrutinib. Dans le bras ibrutinib, les EIAT d'intérêt clinique de grade 3 à 4 étaient les suivants : infections et infestations (38,0 %), neutropénie (55,7 %), diarrhée (2,8 %), saignement (2,8 %), anémie (4,5 %), hypertension (6,3 %) et fibrillation atriale (5,2 %) ; les EIAT d'intérêt clinique de grade 5 étaient les suivants : infections et infestations (3,8 %) et saignement (1,0 %).

Conclusion. Ces données de suivi à long terme confirment que l'ajout d'ibrutinib à BR offre un bénéfice de survie par rapport à BR seul. Les profils de sécurité d'emploi étaient similaires à ceux connus de l'ibrutinib et de BR.

11-03 Maintien à long terme d'une réponse complète avec maladie résiduelle indétectable après une stratégie de traitement combinant de l'ibrutinib à une immunochimiothérapie « adaptée » chez les patients atteints d'une leucémie lymphoïde chronique non antérieurement traitée

AS. Michallet¹, MS. Dilhuydy², F. Subtil³, V. Rouille⁴, B. Mahé⁵, K. Laribi⁶, B. Villemagne⁷, G. Salles⁸, O. Tournilhac⁹, A. Delmer¹⁰, V. Leblond¹¹, C. Tomowiak¹², LM. Fornecker¹³, R. Letestu¹⁴, V. Lévy¹⁵, F. Cymbalista¹⁶, L. Ysebaert¹⁷, C. Dartigeas¹⁸, T. Aurran¹⁹, S. Lepretre²⁰, M. Le Garff-Tavernier²¹, M. Ticchioni²², C. Aanaei²³, F. Nguyen-Khac²⁴, A. Banos²⁵, P. Carassou²⁶, G. Cartron²⁷, M. Truchan-Graczyk²⁸, C. Portois²⁹, B. Pegourie³⁰, P. Feugier³¹

¹ Hématologie, Centre Léon Bérard, Lyon ; ² Hématologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux ; ³ Service d'hématologie, CHU Lyon Sud, Lyon ;

⁴ Département d'hématologie clinique, Saint Eloi, Montpellier ;

⁵ Hématologie, Hôtel-Dieu, Nantes ; ⁶ Hématologie clinique, CH Le Mans, Le Mans ;

⁷ Ch Vendée, service hématologie, La Roche-sur-Yon ; ⁸ Service d'hématologie, CH Lyon Sud, Pierre-Bénite ; ⁹ Hématologie clinique et thérapie cellulaire/EA Creat 7283, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France, Clermont-Ferrand ; ¹⁰ Service d'hématologie clinique, CHU de Reims, Reims ;

¹¹ Hématologie clinique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris ;

¹² Hématologie, CHU de Poitiers, Poitiers ; ¹³ Service d'hématologie, CHU de Strasbourg, Strasbourg ; ¹⁴ Laboratoire d'hématologie, Hôpital Avicenne, Bobigny ;

¹⁵ Hématologie, Hôpital Avicenne, Bobigny ; ¹⁶ Hématologie biologique, Hôpital Avicenne, Bobigny ;

¹⁷ Hématologie clinique, IUCT Oncopole, Toulouse ; ¹⁸ Service hématologie et thérapie cellulaire, Hôpital Bretonneau, Tours ;

¹⁹ Hématologie, Institut Paoli-Calmettes, Boulevard de Sainte-Marguerite, Marseille, France, Marseille ;

²⁰ Hématologie clinique, centre Henri Becquerel, Rouen ;

²¹ Hématologie biologique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris ;

²² Immunologie, Hôpital l'Archet 2, Nice ;

²³ Cytométrie flux, Institut de Cancérologie de la Loire Lucien Neuwirth, Saint-Priest-en-Jarez ;

²⁴ Service d'hématologie biologique, AP-HP La Pitié Salpêtrière, Paris ;

²⁵ Hématologie, Centre Hospitalier de la côte basque, Bayonne ;

²⁶ Hématologie, CH Régional Metz-Thionville CHR-Hôpital Félix Maréchal, Metz ;

²⁷ Hématologie clinique, CHRU Saint Eloi, Montpellier ;

²⁸ Hématologie, CENTRE hospitalier de Saumur, Saumur ;

²⁹ Hématologie, Institut de Cancérologie de la Loire Lucien Neuwirth, Saint-Priest-en-Jarez ;

³⁰ Hématologie, CH Universitaire de Grenoble CHU, Tronche (La) ;

³¹ Hématologie, CHU de Nancy, Nancy

Introduction. L'obtention d'une réponse complète (RC) avec une maladie résiduelle (MR) indétectable ($< 0,01$ %) est associée à une survie sans progression (SSP) et une survie globale (SG) plus longues après immunochimiothérapie. Un certain nombre de nouvelles drogues (inhibiteurs de la voie du BCR ou de BCL2) ont démontré récemment leur efficacité dans la LLC.

Patients et méthodes. Nous avons mené un essai multicentrique de phase II visant à explorer l'efficacité d'un traitement d'induction associant un anticorps anti-CD20 (obinutuzumab) et un inhibiteur de Bruton tyrosine kinase (BTK, ibrutinib), suivi d'une immunochimiothérapie en cas de réponse partielle (RP) ou de MR détectable $\geq 0,01$ % dans un but « d'épargne de chimiothérapie ». Les pts *fit*, atteints de LLC de stades A/B avec critères de maladie active ou de stade C et sans del(17p)/mutation TP53 étaient éligibles. Le traitement d'induction comportait six cycles

d'obinutuzumab et de l'ibrutinib 420 mg/j (neuf mois). Une première évaluation était effectuée au mois 9 comprenant un scanner corps entier, une biopsie de moelle osseuse et l'évaluation de la MR par cytométrie en flux huit couleurs dans le sang (Sg) et la moelle osseuse (Mo). Les pts en RC avec MR médullaire $< 0,01$ % ont reçu de l'ibrutinib seul pendant six mois supplémentaires tandis que les pts en RP ou en RC avec MR médullaire $\geq 0,01$ % recevaient quatre cycles de FC et obinutuzumab tout en poursuivant l'ibrutinib. L'évaluation finale de la réponse était faite au mois 16.

Résultats. Cent trente-cinq pts d'un âge médian de 62 ans, ont été inclus (stade B 67 % et stade C 26 %, statut mutationnel IGHV non muté 56 %). L'évaluation finale a concerné 123 pts, dont 10 n'ont eu que de l'ibrutinib et 113 ont dû recevoir l'association FC obinutuzumab + ibrutinib (FCO + I) selon les résultats de l'évaluation à M9. Le taux de réponse globale est de 100 % avec un taux de RC de 73 % (critères IWCLL) en intention de traiter (ITT). Le taux de MR Mo $< 0,01$ % est de 79 % (ITT) et le taux de RC avec MR Mo $< 0,01$ % est de 62 %. Avec un suivi médian de 26,3 mois, le suivi longitudinal de la MR Sg montre le maintien de la réponse stringente. A 12 mois de la fin du traitement, le taux de MR Sg $< 0,01$ % est de 84,5 % chez les pts ($n = 113$) ayant reçu FCO+I, significativement meilleur que celui des pts ($n = 10$) traités par ibrutinib seul (MR Sg $< 0,01$ % 73,7 %, $p = 0,005$). Il n'existe pas encore de différence significative, à ce point d'évaluation, du taux de MR Sg $< 0,01$ % selon le statut mutationnel IGHV (pts IGHV muté 91,2 % vs pts IGHV non muté 73,7 %). Enfin, les taux de SSP et de SG à deux ans sont respectivement de 97 % et de 97,5 %.

Discussion. Cette stratégie de traitement combinant un traitement d'induction associant un anticorps anti-CD20 et un inhibiteur de BTK puis l'utilisation d'une chimiothérapie décidée selon la réponse initiale avec prise en compte de la MR, a montré que seule une petite minorité des pts a pu « échapper » à la chimiothérapie. Le taux de RC avec MR Mo $< 0,01$ % à l'issue de cette stratégie est très élevé et se maintient dans le temps, montrant l'efficacité de l'association ibrutinib et immunochimiothérapie de durée limitée. Il n'existe pas, au moins avec le recul actuel, de différence significative en fonction du statut mutationnel IGHV. Le profil de tolérance de l'association FCO+I s'est avéré tout à fait acceptable.

Conclusion. L'efficacité de cette stratégie justifierait sa comparaison au sein d'études randomisées avec les associations sans chimiothérapie actuellement développées dans la LLC.

11-04 Analyses moléculaires séquentielles des progressions sous ibrutinib : implications pour le suivi des patients atteints de leucémie lymphoïde chronique

L. Largeaud¹, F. Vergez², L. Oberic³, A. Quillet-Mary⁴, JB. Rieu¹, E. Delabesse¹, L. Ysebaert⁵

¹ Laboratoire d'hématologie, IUCT Oncopole, Toulouse ; ² Laboratoire d'hématologie, Institut Universitaire du Cancer Toulouse Oncopole, Toulouse ; ³ Hématologie, IUCT Oncopole, Toulouse ; ⁴ UMR1037 Inserm CNRS ERL5294 UPS, Centre de recherches en cancérologie de Toulouse, Toulouse ; ⁵ Hématologie clinique, IUCT Oncopole, Toulouse

Introduction. Le suivi moléculaire de l'apparition de mutations est une pratique recommandée avec les thérapies orales ciblées en oncohématologie. L'emploi dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC) de l'ibrutinib est associé au moment de la progression clinique à une fréquence de mutation BTK et/ou PLCG chez 65 %-80 % des cas selon les études. Nous rapportons dans cette étude le suivi d'une cohorte monocentrique de 54 patients traités par ibrutinib en monothérapie. La recherche de mutations de TP53 (exons 2 à 11), de BTK (exon 15) et de PLCG2 (19, 20, 24, 27 et 30) a été réalisée entre 12 mois et 69 mois (médiane : 31,5 mois au premier point, 47,5 mois au deuxième point) après l'introduction du traitement.

Résultats. Sur les 54 patients, 35 patients (65 %) ne montrent pas de signes de progression, dont 23 (66 %) ne présentent aucune mutation de TP53, de BTK ou de PLCG2 au décours de leur suivi. La détection d'une mutation sous-clonale n'est pas synonyme de rechute.

Chez les 19 patients avec rechute clinico-biologique (35 %), 13 présentent une ou plusieurs mutations de BTK et/ou de PLCG2 (68%). Mais notre suivi moléculaire met en évidence des profils distincts en fonction de la date de rechute :

– avant 30 mois ($n = 7$), la rechute précoce présente dans 3/7 cas un clone majoritaire (VAF > 40 %) avec des mutations de BTK sans mutations de TP53/PLCG2. Parmi les 4 autres patients, 2 n'ont pas d'anomalie de BTK, de TP53 et de PLCG2, et un patient présente un clone où la mutation de TP53 a été détectée à une fréquence allélique faible, suggérant que la progression repose chez ces 3 patients sur un mécanisme inconnu indépendant (une analyse NGS avec un panel de 70 gènes est en cours, les résultats seront montrés au congrès). Enfin, chez 1/7 patient, une mutation de TP53 avait été identifiée avant la mise sous ibrutinib avec une fréquence allélique élevée, retrouvée à la progression avec une fréquence allélique identique.

– entre 30 et 60 mois d'ibrutinib ($n = 7$) : 6 patients (86 %) présentent des clones avec des mutations sous-clonales de TP53 associées à des

mutations de *BTK* et/ou de *PLCG2*, mais avec des VAF plus faibles. Chez 1/7 patient, une mutation de *TP53* avait été identifiée avant la mise sous ibrutinib avec une fréquence allélique élevée, retrouvée à la progression avec une fréquence allélique identique et avec 4 sous-clones avec une fréquence allélique faible (< 10%). Avant 60 mois, 2/14 patients ont présenté une rechute avec mutation *TP53* majoritaire donc.

– après 60 mois d'ibrutinib (n = 4) : ces 4 patients présentent tous une mutation de *BTK* ou de *PLCG2* mais sans mutations de *TP53* à des fréquences alléliques intermédiaires. Les mutations de *BTK* ou *PLCG2* avaient été identifiées précédemment à des fréquences alléliques faibles (1-2 ans avant).

Conclusion. Nous avons identifié des profils moléculaires particuliers en fonction des périodes de progression clinico-biologique. Après cinq ans d'évolution, 100 % des patients présentaient une mutation *BTK* et/ou *PLCG2*. La présence d'une mutation sous-clonale de *TP53* peut favoriser la rechute entre 30-60 mois malgré une VAF de mutation *BTK/PLCG2* demeurée faible et stable dans le temps. Le bilan moléculaire initial et le suivi annuel de ces trois mutations (voire semestriel après 30 mois) nous semblent intéressants pour aider le clinicien à interpréter l'apparition de mutations de *BTK*, *PLCG2* et de *TP53* chez les patients traités par ibrutinib.

11-05 La mutation récurrente *IKZF3*^{162R} induit la surexpression de gènes de la voie du BCR et de NF-κB dans un nouveau modèle murin de leucémie lymphoïde chronique

G. Lazarian^{*1}, S. Yin², E. Ten Hacken², T. Sevastianik³, S. Li⁴, L. Billington², H. Joyal², E. Witten², C. Gutierrez², A. Font-Tello⁵, C. Ott⁶, F. Cymbalista¹, F. Baran-Marszak¹, N. Donna⁷, R. Carrasco³, C. Wu²

¹ Laboratoire d'hématologie, Hôpital Avicenne, Bobigny ; ² Medical Oncology, Dana Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis ; ³ Department of oncologic pathology, Dana Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis ; ⁴ Medical Oncology, Dana-Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis ; ⁵ Cfce, Dana Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis ; ⁶ Medical Oncology, Mass General Hospital, Boston, États-Unis ; ⁷ Department of Biostatistics and Computational Biology, Dana Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis

Introduction. Les études de séquençage haut débit dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC) ont récemment identifié une mutation hot-spot d'*IKZF3*, un gène codant un facteur de transcription lymphoïde jouant un rôle dans le développement B, avec une prévalence d'environ 3 %. La mutation est localisée au niveau du domaine de liaison à l'ADN et son retentissement fonctionnel n'a jamais été étudié à ce jour.

Matériels et méthodes. Nous avons généré un modèle murin exprimant la mutation ponctuelle d'*IKZF3* de façon restreinte à la lignée B en croisant des souris transgéniques CD19-cre avec des souris possédant un allèle *Ikzf3* mutant « floxé ». Des cohortes de souris *Ikzf3* mutantes hétérozygotes (*Ikzf3*-Het), mutantes homozygotes (*Ikzf3*-Homo) ou *Ikzf3* sauvage (*Ikzf3*-WT) ont été établies.

Résultats. À partir de l'âge de 18 mois, nous avons détecté l'apparition d'une population clonale B CD5+ de type LLC dans le sang de 33 % des souris *Ikzf3*-Het (10/30) et 3 % des souris *Ikzf3*-Homo, alors qu'aucune souris *Ikzf3*-WT n'a déclaré de lymphoprolifération. Toutes les souris leucémiques présentaient une infiltration splénique importante et une faible localisation médullaire. Les cellules tumorales étaient transplantables chez des souris receveuses NSG ou congéniques irradiées. Pour comprendre les mécanismes sous-jacents contribuant au développement de la LLC dans ce modèle, nous avons réalisé le transcriptome de cellules B purifiées de souris préleucémiques *Ikzf3*-WT ou *Ikzf3*-Homo (n = 3/groupe). Environ 1 400 gènes étaient exprimés de façon différentielle dans les cellules B mutantes (*fold change* > 2, p ajusté < 0,05). L'analyse GSEA a montré un enrichissement en gènes appartenant à la voie du BCR (p < 0,05) et une signature génique de centre germinatif (p < 0,0001) pour les cellules B *Ikzf3* mutantes. *In vitro*, les cellules B mutantes montraient une forte phosphorylation de SYK, AKT et ERK après engagement du BCR par rapport aux souris WT. Pour comprendre les mécanismes moléculaires expliquant ces modifications, nous avons étudié les sites de liaisons d'*IKZF3* à l'ADN et ses gènes cibles par ChIP-seq des cellules B *Ikzf3*-WT et *Ikzf3*-Homo. Nous avons identifié 3 794 sites de liaison à l'ADN pour *IKZF3*-WT et 2 795 pour la protéine mutante mais seulement 910 sites communs entre les deux protéines. L'analyse du motif d'ADN enrichi retrouve deux motifs dominants dont la séquence est altérée pour *IKZF3* mutant. L'analyse intégrative des données de ChIP-seq combinées au RNA-seq (analyse cistrome-GO) a permis de montrer que les gènes avec une liaison robuste d'*IKZF3* mutant étaient principalement surexprimés, ce qui suggère une fonction d'activateur transcriptionnel pour le facteur de transcription mutant. *Nfkb*, un composant de la voie NF-κB, est la principale cible transcriptionnelle d'*Ikzf3*-mutant. Le RNA-seq a ensuite été réalisé sur cellules de LLC triées de souris *Ikzf3*-Het, dont la signature

transcriptomique est distincte des cellules B préleucémiques *Ikzf3*-Het ou *Ikzf3*-WT. On retrouve un enrichissement en gènes appartenant à la voie du BCR et la voie NF-κB, tels que *Nfkb1* et *Nfkbie*.

Conclusion. Nous présentons ici un nouveau modèle murin de LLC basé sur une mutation récurrente retrouvée chez l'Homme, ce qui en fait un modèle génétiquement fidèle. Ce modèle murin sera utile pour tester des drogues *in vivo* dans des conditions physiopathologiques proches de la LLC humaine.

11-06 Moxétumomab pasudotox dans le traitement des leucémies à tricholeucocytes réfractaires ou en rechute Résultats à long terme de l'étude pivotale de phase III

X. Troussard¹, R. Kreitman², C. Dearden³, PL. Zinzani⁴, L. Karlin⁵, J. Delgado⁶, P. Rousselot⁷, S. Leprêtre⁸, K. Bouabdallah⁹, F. Maloisel¹⁰, E. Mityry^{*11}, F. Rotolo¹², I. Pastan², F. Giles¹³

¹ Laboratoire d'hématologie - registre régional des hémopathies malignes de Basse-Normandie, CHU de Caen, Caen ; ² Laboratory of molecular biology, National Cancer Institute, Bethesda, États-Unis ; ³ Haemato-oncology unit, Royal Marsden NHS Foundation, Londres, Royaume Uni ; ⁴ Institute of Hematology, University of Bologna, Bologne, Italie ; ⁵ Hématologie clinique, Hospices Civils de Lyon, Lyon ; ⁶ Hematology, Hospital Clònic de Barcelona, Barcelone, Espagne ; ⁷ Hématologie et Oncologie, CH de Versailles, Versailles ; ⁸ Hématologie clinique, centre Henri Becquerel, Rouen ; ⁹ Hématologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux ; ¹⁰ Hématologie, Clinique Sainte Anne, Strasbourg ; ¹¹ Département médical, Innate Pharma, Marseille ; ¹² Unité de biostatistique et data management, Innate Pharma, Marseille ; ¹³ Hematology, Developmental Therapeutics Consortium, Chicago, États-Unis

Introduction. Moxétumomab pasudotox (moxe) est une cytotoxine ciblant CD22 et un traitement *first-in-class* approuvé aux États-Unis pour le traitement des leucémies à tricholeucocytes en rechute ou réfractaires (LT R/R). L'étude pivotale de phase III, multicentrique, non comparative (étude 1053 ; NCT01829711) a évalué l'efficacité, la tolérance, l'immunogénicité et la pharmacodynamique de moxe en monothérapie chez des patients (pts) avec LT R/R. Les résultats de l'analyse finale (durée médiane de suivi : 24,6 mois (rang 1,2-71,7)) sont présentés.

Patients et méthodes. Pts avec LT R/R ayant reçu ≥ 2 traitements systémiques incluant ≥ 2 lignes par analogues des purines (PNA) ou une ligne par PNA suivie par ≥ 1 ligne de rituximab ou inhibiteur de BRAF. Moxe était administré à la dose 40 µg/kg IV à J1 + 8 + J15 tous les 28 jours pendant six cycles, ou jusqu'à obtention d'une réponse complète (RC) sans maladie résiduelle (MRD), progression tumorale ou arrêt pour toxicité. La réponse tumorale et le statut MRD en IHC étaient déterminés par revue centrale indépendante. Objectif principal : RC durable définie par l'obtention d'une RC avec rémission hématologique (RH) > 180 jours. RH définie par hémoglobine ≥ 11,0 g/dL, neutrophiles ≥ 1,5 × 10³/µL et plaquettes ≥ 100 × 10³/µL sans transfusion ou facteurs de croissance pendant les quatre semaines précédant l'évaluation. Le taux de RC durable avec RH ≥ 360 jours a été estimé lors de l'analyse finale.

Résultats. Quatre-vingts pts (63 hommes ; âge médian 60 ans [34-84]) ont été traités. Nombre médian de traitements systémiques antérieurs : trois (2-11) ; 48,8 % des pts étaient réfractaires aux PNA et 37,5 % n'étaient pas candidats à un retraitement par PNA. Nombre médian de cycles de moxe : six (1-7). Taux de RC durable : 36,3 % (29/80 pts ; intervalle de confiance à 95 % [IC95] : 25,8-47,8 %). Taux de RC durable avec RH ≥ 360 jours : 32,5 % (26/80 pts ; IC95 : 22,4-43,9 %). Taux de RC : 41,3 % (33/80 pts ; IC95 : 30,4-52,8 %). Statut MRD-négatif : 81,6 % (27/33) des pts avec RC et 33,8 % de l'ensemble des pts. Taux de RH : 80,0 % (64/80 pts). Durée médiane de RH depuis l'obtention d'une RC : 62,8 mois (95CI : 35,7-62,8). PFS médiane : 41,5 mois (0+ -71,7).

Événements indésirables (EI) liés au traitement (EILT) les plus fréquents : nausées (28 %), œdème périphérique (26 %), céphalées (21 %) et fièvre (20 %). EILT grade 3-4 : 24 pts (30,0 %), EI graves : 28 pts (35,0 %). EILT nécessitant l'arrêt du traitement : huit pts (10,0 %) : syndrome hémolytique urémique (SHU) : quatre pts (5,0 %) ; syndrome de fuite capillaire (CLS), deux pts (2,5 %) ; élévation de la créatininémie : deux pts (2,5 %). CLS grade ≥ 3 : deux pts (2,5 %), SHU grade ≥ 3 : cinq pts (6,3 %). Les SHU et CLS étaient en général gérables et réversibles avec des soins de support et une surveillance appropriés. Les données de suivi suggèrent l'absence d'altération de la fonction rénale à long terme (valeurs moyennes normales de la créatininémie à 12 mois post-traitement). Aucun décès lié au traitement n'a été rapporté.

Conclusion. Chez des patients avec une LT R/R lourdement prétraitée moxe a permis d'obtenir un taux élevé de RC durable avec absence de MRD. Le profil de tolérance était acceptable. Une surveillance proactive des patients et l'application des mesures appropriées, en particulier pour les symptômes de SHU et CLS, sont importantes.

11-07 Oligoclonalité dans la leucémie lymphoïde chronique : apport de l'étude du répertoire des gènes IGHV et de la cytométrie en flux dans les formes familiales

F. Theves¹, A. Langlois de Septenville¹, M. Le Garff-Tavernier¹, C. Quederec¹, S. Choquet², F. Davi¹

¹ Hématologie biologique, hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, Paris ; ² Hématologie clinique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris

Introduction. La LLC est une des hémopathies où une prédisposition familiale est le plus souvent retrouvée, avec un risque 8,5 fois plus important pour les apparentés du premier degré. On distingue les formes familiales pures où les sujets présentent uniquement une LLC, et les formes mixtes comprenant une LLC et/ou un autre syndrome lymphoprolifératif. Le modèle actuel de leucémogénèse de la LLC, soutenu par les modèles animaux, implique dans un premier temps une lésion génomique dans des précurseurs hématopoïétiques, dont l'effet délétère sur la lignée B nécessite un temps de latence. La stimulation antigénique chronique permet secondairement l'expansion clonale des cellules malignes, également favorisée par des altérations génétiques additionnelles. Nous avons postulé que dans les formes familiales de LLC, les étapes précoces de la leucémogénèse pourraient être mises en évidence sous la forme de populations minoritaires oligoclonales chez les patients et parmi leurs apparentés.

Matériels et méthodes. La cohorte étudiée comprend 107 patients avec une LLC familiale, dont 76 avec une forme pure et 31 avec une forme mixte, ainsi que 70 apparentés sains et 102 cas de LLC sporadiques. La clonalité a été évaluée par le séquençage à haut débit (NGS) des gènes d'immunoglobulines (IGH) associée à une analyse de cytométrie en flux. Afin de définir la notion de clone moléculaire, 14 sujets sains ont été séquencés en double permettant d'établir un seuil supérieur à 1 % pour un clone « majoritaire » ou inférieur à 1 % et reproductible pour un clone « minoritaire ».

Résultats. Pour les clones majoritaires, les LLC familiales pures présentaient plus fréquemment des formes oligoclonales (14/76 ; 18 %) que les formes mixtes (5/31 ; 16 %) et les LLC sporadiques (11/102 ; 11 %), sans que cette différence soit statistiquement significative ($p = 0,2$). Sur 13 LLC familiales pures et 11 LLC sporadiques séquencées en duplicate, la proportion de clones minoritaires était significativement plus élevée dans les premières (202/3 911 ; 2,6 % versus 44/2 806 ; 1,1 %, $p < 0,05$). Le phénotype de l'ensemble de ces clones secondaires était de type LLC dans les formes familiales pures contrairement aux formes mixtes. Le taux de LBM familiales était de 24 % (17/70). Le statut mutationnel, l'utilisation des gènes IGHV et la fréquence des BcR stéréotypiques, ne différaient pas significativement entre les clones

leucémogénèse. D'autre part, la proportion plus élevée de séquences IGHV non mutées dans les clones principaux des LLC par rapport aux clones secondaires suggère un avantage sélectif pour leur expansion.

11-08 Impact des cytopénies auto-immunes sur la survie des patients présentant une leucémie lymphoïde chronique : analyse de régression multivariée à propos de 147 cas

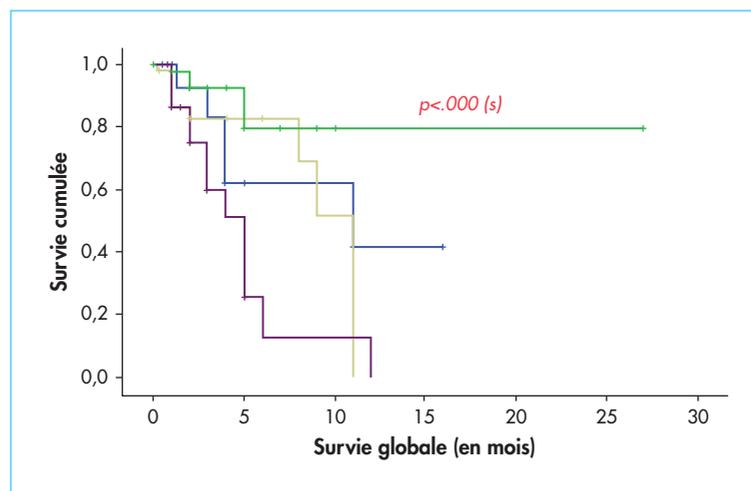
F. Talbi¹, M. Abbadi², S. Menouer¹, M. Djilali², A. Ghassoul¹, K. Belateche¹, F.Z. Ardjoun¹, K. Djouadi¹

¹ hématologie, hôpital central de l'armée DR Mohamed Seghir Nekkache, Alger, Algérie ; ² Hématologie, HCA, Alger Centre, Algérie

Introduction. Les cytopénies auto-immunes (CAI) peuvent précéder ou compliquer une LLC, celles-ci regroupent : l'anémie hémolytique auto-immune (HAI), la thrombopénie auto-immune (PTI), le sd d'EVANS, la neutropénie et l'érythroblastopénie AI. La prévalence est estimée à **7 % et 2 %** respectivement pour l'HAI et la PTI. Il semblerait que cette complication soit corrélée à certaines caractéristiques cliniques et biologiques (de la LLC). L'impact des CAI sur le pronostic des patients (présentant une LLC) reste largement controversé en raison de l'hétérogénéité des populations étudiées, des différences dans la conception des études et l'interprétation des données [1].

Patients et méthodes. Analyse rétrospective portant sur 147 LLC. Le caractère immunologique de l'anémie hémolytique auto-immune (AHA) est défini par un taux d'Hb ≤ 10 g/dL + un marqueur d'hémolyse (\uparrow bili libre, LDH ou numération réticulocytaire, \downarrow haptoglobine). La preuve du mécanisme auto-immun nécessite un TCD +, agglutinines froides, ou au moins deux marqueurs d'hémolyse (en l'absence de signes de saignement ou d'hypersplénisme). La thrombocytopénie immunologique (PTI) correspond à un taux de plq ≤ 100 G/L avec des mégacaryocytes (BM) normaux/ \uparrow ou un taux de réticulocytes normal/ \uparrow . La survie globale est analysée par la méthode de Kaplan-Meier et l'analyse multivariée par la méthode de Cox.

Résultats. N = 147 LLC colligées sur une période de 15 ans (2005-2019) au service d'hématologie de l'hôpital central de l'armée : n = 107 H/40 F : sex-ratio $\rightarrow 2,7$, âge moyen : $67 \pm 11,4$ ans [32-98]. Répartition selon les stades Binet : stade A : n = 65 (44%), stade B : n = 33 (22%), stade C : n = 49 (33%). Fréquence des cytopénies auto-immunes (CAI) : n = 18/147 (12%) \rightarrow n = 10 HAI (6,8 %), n = cinq PTI (3 %). N = 3 sd d'Evans (1,3 %). Corrélation entre les CAI et le sexe : $p = 0,77$ (ns) ; l'âge avancé (< 55 ans) : $p = 0,04$ (s).



principaux des LLC familiales et sporadiques. En revanche, la proportion de clones non mutés était significativement plus importante dans les clones principaux de LLC (37 %), que dans les clones secondaires supérieurs et inférieurs à 1 % (respectivement 24 % et 29 %) et ceux de LBM (6 %), $p < 0,05$.

Conclusion. Nos résultats montrent que les LLC familiales, comparées aux LLC sporadiques, présentent un taux plus élevé de LBM et une oligoclonalité plus marquée, surtout concernant les clones minoritaires. Ceux-ci pourraient être les témoins des étapes précoces de la

Analyse de la SG à cinq ans (figure 1) = 58 % ; impact de l'âge : $p < 0,000$, de l'HAI : 81 % vs 20 % (sans HAI), $p = 0,03$ (s), du PTI : 89 % vs 84 % (sans PTI) $\rightarrow p = 0,8$ (ns).

Modèle multivarié : influence de l'âge (sur la SG) : HR = 1,677 [1,09-2,36], $p = 0,005$, impact de l'HAI : HR = 3,46 [1,24-9,59], $p = 0,03$ (s). **Conclusion.** Nos données rejoignent celles de la littérature en ce qui concerne : la fréquence des CAI chez les patients présentant une LLC, leur corrélation (CAI) avec l'âge, et surtout, leur impact sur la SG des patients (en analyse uni- puis multivariée ; cet effet se limite à l'HAI).

11-09 Incidence des traitements sur la diversification clonale de TP53 dans la leucémie lymphoïde chronique : analyse de 570 mutations de la cohorte de la French Innovative Leukemia Organization

F. THEVES^{*1}, G. Lazarian², M. Hormi², F. Carole², V. Eclache², S. Poulain³, A. Bidet⁴, C. Pastoret⁵, L. Veronese⁶, E. Delabesse⁷, MH. Estienne⁸, N. Nadal⁹, F. Davi¹⁰, F. Nguyen-Khac¹⁰, L. Lodé¹¹, P. Sujobert¹², D. Naguib¹³, S. Raynaud¹⁴, S. Giraudier¹⁵, O. Kosmider¹⁶, P. Etancelin¹⁷, P. Cornillet-Lefebvre¹⁸, L. Migué¹⁹, V. Leblond¹, R. Letestu², T. Soussi²⁰, F. Cymbalista², F. Baran-Marszak²

¹ Hématologie clinique, Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, Paris ; ² Laboratoire d'hématologie, Hôpital Avicenne, Bobigny ; ³ Hématologie cellulaire, centre de biologie et pathologie, Inserm UMR 1172, IRCL, CHRU de Lille, Lille ; ⁴ Laboratoire d'hématologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux ; ⁵ Laboratoire d'hématologie, Inserm U1236, CHU de Rennes, Rennes ; ⁶ Hématologie biologique, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France, Clermont-Ferrand ; ⁷ Hématologie biologique, Institut Universitaire du Cancer Toulouse Oncopole, Toulouse ; ⁸ Hématologie biologique, CHRU Hôpital de Tours • Bretonneau, Tours ; ⁹ Hématologie biologique, CHU Dijon, Dijon ; ¹⁰ Hématologie biologique, Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, Paris ; ¹¹ Hématologie biologique, CHU Montpellier, Montpellier ; ¹² Hématologie, CH Lyon Sud, Pierre-Bénite ; ¹³ Laboratoire d'Hématologie, CHU Côte de Nacre, Caen ; ¹⁴, Hôpital Pasteur CHU de Nice, Nice ; ¹⁵ UMR_S_1131, Inserm, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris ; ¹⁶ Hématologie biologique, AP-HP, Hôpital Cochin, Paris ; ¹⁷ Laboratoire de Génétique Oncologique, Centre Henri Becquerel, ROUEN ; ¹⁸ Biologie, Hôpital Robert Debré, Reims ; ¹⁹ Laboratoire d'hématologie, CHRU Hôpitaux Universitaires Strasbourg, Strasbourg ; ²⁰ Department of Oncology Pathology, Institut Karolinska, Solna, Suède

Introduction. Dans la LLC, les altérations de TP53 (mutations de TP53 et/ou del(17p)) sont toujours associées à un pronostic défavorable et une résistance à la chimiothérapie. Elles sont également un élément pronostique défavorable avec les thérapeutiques ciblées. Dans le cadre du groupe FILO, 570 mutations de TP53 chez 343 patients atteints de LLC ont été recueillies et l'impact des différents traitements reçus sur ces mutations a été analysé.

Patients et méthodes. Les mutations de TP53 ont été identifiées en NGS couvrant les exons de deux à 11 avec un seuil de 1 % et validées dans la base UMD_TP53 regroupant 90 000 mutations de tous types de cancers. Pour les variants de faible fréquence allélique (VAF), un contrôle par PCR digitale a été réalisé. Le statut IGHV et l'analyse par FISH étaient disponibles pour 234 et 205 patients respectivement.

Résultats. La majorité des variants sont localisés dans le domaine de liaison à l'ADN (83 %) et les mutations sont faux-sens dans 74 % des cas. La présence de patients polymutés est fréquente (113 patients soit 33 %) : 57 patients (16,7 %) ont deux variants, 32 (9,3 %) ont trois variants, 10 (3 %) en ont quatre et 14 (4 %) en ont entre cinq et 11. Grâce à des techniques de séquençage long et d'analyse *in silico*, nous avons pu montrer que les variants sont sur des allèles ou clones différents, soulignant une hétérogénéité clonale importante et une perte croissante de la fonction de TP53 au cours de l'évolution de la maladie. La plupart des mutations uniques sont des mutations faux-sens, suggérant qu'il pourrait y avoir un rôle additionnel de la protéine p53 mutée par rapport à l'absence d'expression de p53. Chez 6 % des patients, on confirme la présence d'un hot-spot de mutation en position Y234, quasiment absent dans les cancers solides et des autres hémopathies. Les mutations de TP53 sont associées à un statut IGHV non muté dans 73 % des cas, et parmi ces patients, on retrouve une prédominance de mutations uniques de TP53 (70 %). La présence ou non d'une del(17p) est indépendante du nombre de variants de TP53. Les variants multiples sont principalement retrouvés chez les patients précédemment traités (41 % versus 10 %). La répartition des patients ayant plusieurs variants est identique qu'ils aient reçu FCR ou BR (30 % multiples) ou tout autre traitement (36 %) à l'exception du Chloramiphène (CLB) (70 à 77 % suivant le nombre de lignes). Enfin, la mutation Y234 est retrouvée uniquement chez des patients ayant reçu une chimiothérapie, en particulier du CLB (89 %). Il s'agit d'ailleurs d'une mutation de transition AT>GC comme rencontrée après exposition à des carcinogènes, contrairement à la majorité des mutations dans la LLC.

Conclusion. Cette étude souligne l'hétérogénéité des mutations de TP53 dans la LLC, notamment chez les patients traités. Après CLB, on retrouve une évolution clonale différente des autres traitements, et notamment la présence de la mutation Y234. Des études sont en cours pour mieux cerner l'impact du CLB sur la survie de cette mutation.

11-10 Recherche de B cell receptors stéréotypés de type leucémie lymphoïde chronique chez des patients exempts d'hémopathie par séquençage haut débit

M. Dupont^{*1}, A. Saint-Amand², P. Derouault³, M. Boulon¹, N. Dmytruk⁴, J. Chauzeix¹, J. Feuillard¹, N. Gachard¹, D. Rizzo¹

¹ Hématologie biologique, CHU Limoges, Limoges ; ² Contrôle de la réponse immunitaire et lymphoproliférations, UMR CNRS 7276/UMR Inserm 1262, Limoges ; ³ Biochimie et génétique moléculaire, CHU Limoges, Limoges ; ⁴ Hématologie clinique et thérapie cellulaire, CHU de Limoges Dupuytren, Limoges

Introduction. La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est un syndrome lymphoprolifératif du sujet âgé. Un tiers des cas de LLC présentent des BCR (*B cell receptor*) stéréotypés, appelés *subset*, alors que le nombre de combinaisons VDJ possibles atteint 10¹². Ceci suggère un rôle important de la sélection antigénique au cours du développement clonal de la LLC. Certains stéréotypes ont un fort impact physiopathologique. Par exemple, le *subset* #2 est associé à un pronostic péjoratif et aux altérations des gènes *SF3B1* et *ATM*. En conséquence, nous avons posé la question d'une production « naturelle » éventuelle de lymphocytes B porteurs d'un BCR de type LLC chez des individus sains.

Matériels et méthodes. Les régions VDJ ont été amplifiées entre les *loci* FR1 et JH par PCR multiplex (amorces BIOMED-2) à partir d'ADN de lymphocytes B purifiés. Une seconde PCR a permis l'indexage des différents échantillons. Le séquençage a été réalisé sur un appareil de type Illumina MiSeq. L'annotation des séquences a été obtenue à l'aide de l'outil HighV-Quest. La recherche de séquences stéréotypées (limitée aux 19 stéréotypes majeurs) a été réalisée à l'aide d'un script R maison et de l'outil en ligne ARResT/AssignSubsets. Nous avons étudié une cohorte de 19 patients âgés de 55 à 76 ans, exempts d'hémopathie et sans traitements immunomodulateurs ou immunosuppresseurs. L'absence de clone B a été contrôlée par cytométrie en flux.

Résultats. Sept *subsets* ont été retrouvés chez plus de 50 % des patients (*subsets* #2, #5, #59, #3, #202, #7C et #77). Les *subsets* #28A, #31, #64B, #99, #201, #1, #8 et #14 ont été mis en évidence chez un (5 %) à huit (42 %) patients. En revanche, aucune séquence VDJ correspondant aux *subsets* #4, #6, #12 et #16 n'a été identifiée. Nous n'avons pas pu établir de lien direct avec l'âge sur cette faible cohorte. Lorsqu'ils étaient présents, les abondances relatives des lymphocytes B « stéréotypés » de type LLC restaient très faibles. Les *subsets* #2 et #5 étaient les plus abondants, environ 0,01 % de la totalité des séquences VDJ générées. L'abondance des autres *subsets* ne dépassait pas 0,001 %.

Discussion. Nos résultats mettent en évidence une faible production basale de ces lymphocytes B et posent la question d'une variation en fonction de l'âge et de l'immunosénescence des individus. Fait marquant : le *subset* #2, retrouvé chez plus de 50 % des individus sains testés n'est identifié que dans 2,8 % des cas de LLC, suggérant que le développement de clones à partir de ces précurseurs est dépendant d'événements oncogéniques ultérieurs. Concernant les *subsets* qui n'ont pas été retrouvés, il est possible qu'ils soient directement éliminés dès leur production, dans des conditions favorisant l'apoptose plutôt que l'angergie.

Conclusion. Il existe une production naturelle de lymphocytes B porteurs de BCR stéréotypés de type LLC dont l'expansion clonale serait strictement régulée. Une étude à plus large échelle est nécessaire pour comprendre le développement précoce de la LLC.

11-11 Étude des performances du logiciel d'analyse non supervisée FlowSOM dans l'étude de la maladie résiduelle dans la leucémie lymphoïde chronique

A. Apete¹, F. Dumezy², J. Herlem¹, E. Boutte¹, J. Bruge¹, A. Charpentier^{*1}

¹ Laboratoire d'hématologie, Hôpital Saint-Philibert, GHICL, Lomme Cedex ; ² Laboratoire d'hématologie, CH Régional Universitaire de Lille, Lille

Introduction. L'évaluation de la maladie résiduelle dans la LLC (MRD LLC) par cytométrie occupe une place grandissante dans les protocoles thérapeutiques. L'amélioration des panels de cytométrie en flux permet d'atteindre des seuils de détection de plus en plus bas (10⁻⁵ à 10⁻⁶) mais l'interprétation manuelle des graphiques se complexifie. Nous avons évalué l'apport du logiciel d'analyse non supervisée FlowSOM pour repérer les cellules résiduelles de LLC.

Matériels et méthodes. Nous avons comparé la mesure de la MRD LLC avec un panel dérivé du protocole FILO : CD81, CD22, CD79b, CD19, CD5, CD43, CD20 et CD45) par méthode manuelle classique de cytométrie et par FlowSOM. FlowSOM est un outil de classement et de visualisation de données. Le classement est réalisé par *n* répétitions amélioratives d'un rangement non supervisé des données dans une grille de dimension (x,y). L'algorithme FlowSOM a été préalablement paramétré (FS, SS, fluorescence, nombre de répétitions de la boucle de classement, nombre de clusters et de métaclusters, etc.). Nous avons testé 10 patients à différents niveaux de MRD. Pour chaque échantillon, les événements MRD

+ ont été dénombrés par les deux méthodes après analyse d'au moins 500 000 événements. Le statut de la MRD a été fixé à partir de la méthode manuelle : deux patients avaient une MRD indétectable, trois une MRD détectable non quantifiable et cinq une MRD quantifiable.

Résultats. Le panel MRD-LLC par méthode manuelle permet une limite de détection à $3,6,10^{-5}$ (soit 18/500 000 événements) et une limite de quantification à $9,4,10^{-5}$ (soit 47/500 000 événements). Dans la majorité des cas, avec FlowSOM, les clusters de cellules résiduelles sont clairement repérables et sont distincts des autres populations cellulaires. En termes de sensibilité de détection des cellules résiduelles, FlowSOM a des performances comparables à celles de la méthode de cytométrie manuelle : – échantillons présentant une MRD indétectable par méthode manuelle : FlowSOM ne détecte pas de cellules de LLC.

– échantillons présentant une MRD détectable non quantifiable : FlowSOM repère bien les cellules résiduelles. Le nombre d'événements positifs détectés avec FlowSOM est plus élevé mais n'est pas significativement différent de la méthode manuelle (respectivement : médiane = 41 [34,5 - 43,5] et 25 [24,5 - 27,5], $p = 0,2$).

– échantillons présentant une MRD quantifiable : FlowSOM dénombre bien les cellules résiduelles. Le nombre d'événements positifs n'est également pas significativement différent entre FlowSOM et la méthode manuelle (respectivement : médiane = 234 [99-1 219] et 193 [100-1 222], $p = 1$).

Conclusion. FlowSOM permet une bonne visualisation de la population de cellules résiduelles de LLC en s'affranchissant de la multiplication des booléennes pour un nombre important d'anticorps et de la subjectivité de l'analyse manuelle. Pour le moment, notre étude n'a pas mis en évidence d'amélioration de la sensibilité de détection des cellules de MRD avec FlowSOM par rapport à la cytométrie classique. La qualité de l'acquisition et le paramétrage de FlowSOM sont déterminants car ils influent sur le résultat. Une personnalisation de l'algorithme avec une meilleure ergonomie, un apprentissage par passage de nombreux patients seraient des pistes d'amélioration de cette analyse automatisée afin de proposer une alternative aux réglages par cytométrie manuelle classique.

11-12 Évolution du taux de gammaglobulines chez les patients atteints de leucémie lymphoïde chronique traités par ibrutinib

A. Teste^{*1}, C. Protin², L. Oberic³, N. Diop⁴, C. Croizier⁵, O. Tournilhac⁴, L. Ysebaert², R. Guïèze⁶

¹ CHU Estaing, Clermont-Ferrand ; ² Hématologie clinique, IUCT Oncopole, Toulouse ; ³ Hématologie, IUCT Oncopole, Toulouse ; ⁴ Hématologie clinique et thérapie cellulaire/EA Creat 7283, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France, Clermont-Ferrand ; ⁵ thérapie cellulaire et hématologie clinique adulte, CHU Estaing, Clermont-Ferrand ; ⁶ Hématologie clinique et thérapie cellulaire, CHU Estaing, Clermont-Ferrand

Introduction. L'ibrutinib a transformé la prise en charge des patients présentant une leucémie lymphoïde chronique (LLC). Il agit essentiellement comme inhibiteur de la signalisation du récepteur B en ciblant la Bruton tyrosine kinase (BTK), une protéine dont la mutation est responsable d'une forme d'immunodéficience héréditaire par agammaglobulinémie liée à l'X. Si le profil de tolérance de l'ibrutinib est acceptable, il peut être associé à un certain risque infectieux mais les conséquences immunologiques d'une inhibition prolongée de la BTK sont toutefois mal connues. Nous proposons ici de mieux caractériser l'évolution du taux de gammaglobulines au cours du temps chez les patients traités par ibrutinib.

Patients et méthodes. Notre étude a inclus les patients traités par ibrutinib pour une LLC en première ligne ou en progression/rechute pour lesquels un suivi du taux de gammaglobulines par électrophorèse des protéines sériques avait été effectué avant et pendant traitement et traités de mars 2014 à mars 2019 au CHU de Clermont-Ferrand et à l'Institut universitaire du cancer de Toulouse Oncopole.

Résultats. Un total de 97 patients a pu être inclus dans notre étude. La durée moyenne de traitement par ibrutinib était de 702 jours. Avant la mise sous ibrutinib, 20 % des patients présentaient des taux de gammaglobulines dans les normes (entre 8 et 16 g/dL), 78 % avaient une hypogammaglobulinémie et 2 % présentaient des taux augmentés. Aux dernières nouvelles, 14 % gardaient des valeurs de gammaglobulines dans les normes alors que 86 % présentaient une hypogammaglobulinémie. Sur cette période 61 % des patients ont présenté une diminution globale du taux de leurs gammaglobulines et 38 % une augmentation (coefficient de corrélation de Spearman à 0,671). L'analyse de la pente de régression de la variation du taux de gammaglobulines depuis l'initiation du traitement aux différents moments du suivi indique une tendance à la stabilité les deux premiers mois suivis d'une diminution progressive du troisième au 12^e mois de traitement par ibrutinib. Le stade de Binet, le statut TP53, le caryotype et les traitements antérieurs n'avaient pas d'influence significative sur l'évolution du taux de gammaglobulines. De plus, pour un patient donné, l'évolution du taux de gammaglobulines n'est pas constante au cours du temps : 57 % présentent une variation moyenne de pente négative (= diminution) et 43 % une variation moyenne positive (= augmentation) avec une stabilité qui apparaît à partir de six mois de traitement et ce de manière significative ($p = 0,018$). Concernant le risque infectieux, 12 patients ont présenté une infection de

grade III-IV au cours de l'étude ; 11 de ces cas présentaient un taux de gammaglobulines en décroissance. Cinquante pour cent des infections ont eu lieu dans les trois premiers mois de traitement. A six mois d'ibrutinib, cinq patients avaient moins de 4 g/L de gammaglobulines et six patients gardaient des taux inférieurs à 12 mois. Cinq d'entre eux recevaient des immunoglobulines intraveineuses (IgIV).

Conclusion. Notre étude montre que l'ibrutinib est généralement à l'origine d'une chute du taux de gammaglobulines, possiblement associée à un risque infectieux dans les premiers mois de traitement. Nos observations suggèrent également un rôle de l'ibrutinib en faveur d'une reconstitution immunitaire à terme.

11-13 Facteurs impactant les longues survies de la leucémie lymphoïde chronique à l'ère de l'immunochimiothérapie

MT. Abad^{*}, S. Taoussi, S. Oukid, H. Brahimi, F. Lamraoui, N. Rekab, Y. Bouchakor Mousa, KM. Benlabiod, M. Bradai

EHS ELCC. Faculté de médecine, hématologie, Université Blida1, Laboratoire Recherche Hémopathies Malignes, BP 270, route de Soumaa, Blida, Algérie

Introduction. Alors que la leucémie lymphoïde chronique (LLC) demeure une maladie incurable, ces deux dernières décennies ont été marquées par l'émergence de très longues survies résultant de l'introduction de l'immunochimiothérapie.

Nous rapportons et analysons dans cette étude monocentrique le devenir à long terme d'une cohorte de patients (pts) à l'ère de l'immunochimiothérapie au regard des facteurs ayant impacté cette évolution.

Patients et méthodes. Sur une cohorte de 212 LLC recrutées entre janvier 2007 et novembre 2014, quatre-vingt-huit (88) pts ont survécu plus de cinq ans après le diagnostic. Tous les cas inclus ont bénéficié d'une étude clinique et paraclinique classique et d'une analyse cytogénétique par FISH à la recherche des délétions 13q14, ATM, P53, 6q21 et de la trisomie 12. Les pts au stade de Binet A ($n = 29$) ont été suivis sans traitement jusqu'à progression qui a concerné 12 pts, ceux aux stades B et C ont été majoritairement traités soit par FC ($n = 21$) soit par RFC ($n = 30$), les autres pts ont bénéficié de traitements classiques (Chloraminophène, COP, CHOP LLC). L'évaluation des réponses au traitement s'est faite selon les critères du NCI. La date de point est le 31 décembre 2019.

Résultats. Il s'agit de 88 pts dont 23 femmes et 65 hommes (sex-ratio = 2,8), repartis selon la classification de Binet en stade A = 29 cas (33 %), B = 33 cas (37,5 %), C = 26 cas (29,5 %). Au plan cytogénétique, 18 pts ne présentaient aucune anomalie (20,5 %), 36 pts avaient une del(13q14) (41 %), 16 pts une trisomie 12 (18,2 %), 10 pts une del(ATM) (11,4 %), cinq pts une del(6q21) (5,5 %) et trois pts une del(P53) (3,4 %). Pour l'ensemble des pts, la médiane de survie globale est de 105 mois ; elle est de 101 mois chez les hommes vs non atteinte chez les femmes ($p = 0,013$) ; elle est de 132 mois pour les stades A où on enregistre six décès (20,5 %), de 103 mois pour les stades B avec 15 décès (45,5 %) et de 84 mois pour les stades C avec 16 décès (61,5 %). A vs B $p = 0,039$; A vs C $p = 0,002$; B vs C $p = 0,21$. La médiane de survie des pts de moins de 70 ans est de 106 mois vs 88 mois pour ceux de plus de 70 ans ($p = 0,07$). La médiane de survie des pts ayant reçu du RFC est de 132 mois vs 84 mois pour ceux ayant reçu du FC ($p = 0,03$). Au plan cytogénétique, la médiane de survie pour les pts sans anomalie n'est pas atteinte avec huit décès sur 18 (44,5 %), elle est de 106 mois pour les del(13q14) avec 15 décès sur 36 (41,5 %), de 93 mois pour les del(ATM) avec cinq décès sur 10 (50%) et n'est pas atteinte pour la trisomie 12 avec quatre décès sur 16 (25 %) ; 2/3 cas de del(P53) sont décédés.

Discussion. Avant l'ère de l'immunochimiothérapie, seuls les stades A avaient une espérance de survie comparable à celle de la population témoin. L'introduction du protocole FC a permis une amélioration considérable du taux de réponses complètes sans prolonger la survie globale. Le protocole RFC est le premier traitement qui a significativement prolongé la survie sans progression et même la survie globale en particulier dans les LLC de faible risque. Les bénéfices liés à ces deux traitements ont été établis chez notre population de patients.

Conclusion. Le sexe féminin, le stade A, l'âge inférieur à 70 ans, le traitement par RFC, l'absence d'anomalies cytogénétiques ou la présence d'une del(13q14) isolée ou d'une trisomie 12 isolée sont corrélés à une espérance de survie significativement plus longue de la LLC.

11-14 Leucémie polymphocytaire T : expérience monocentrique sur 20 ans

J. Paillassa^{*1}, A. Schmidt², M. Dib¹, M. Gardembas Pain³, A. Giltat⁴, A. Claver⁴, JB. Robin², C. Foussard⁵, F. Genevieve⁶, MC. Roussellet⁷, MP. Moles-Moreau⁴, M. Hunault-Berger⁸

¹ Maladies du sang, CHU d'Angers, Angers ; ² Hématologie, CHU Angers, Angers ; ³ Hématologie, CHU Angers, Angers ; ⁴ Maladies du sang, CHU Angers, Angers ; ⁵ Service des maladies du sang, CHU d'Angers, Rue Larrey, Angers, France, Angers ; ⁶ Laboratoire d'hématologie, CHU Angers, Angers ; ⁷ Anatomopathologie, CHU Angers, Angers ; ⁸ Service des maladies du sang, CHU Angers, Angers

Introduction. La leucémie prolymphocytaire T (LPT) est une hémopathie agressive, rare et grave, grevée d'une survie globale (SG) de quelques mois et pour laquelle peu de données en vie réelle sont disponibles. Parmi les options thérapeutiques, l'alemtuzumab et les analogues des purines semblent apporter quelques résultats intéressants mais avec un taux de rechutes majeur. L'objectif de ce travail est d'analyser les données en vie réelle des patients atteints de LPT dans notre centre ces 20 dernières années.

Patients et méthodes. Nous avons recueilli de façon exhaustive les données des patients atteints de LPT et traités dans notre centre du 1^{er} janvier 1999 au 1^{er} janvier 2020, à l'aide des données du DIM ainsi que des laboratoires d'hématologie et d'anatomopathologie. Les données épidémiologiques, cliniques, biologiques et thérapeutiques ont été analysées. Les critères de réponse utilisés sont ceux de Staber *et al.* Les analyses de survie ont été réalisées à l'aide de la méthode de Kaplan-Meier et du logiciel SPSS (v 16.0).

Résultats. 11 patients atteints de LPT ont été traités dans notre centre sur 20 ans. L'âge médian est de 72 ans (53-87), 55 % des patients sont des hommes. 73 % des patients ont des comorbidités, notamment cardiovasculaires. Un seul patient a un antécédent familial d'hémopathie maligne (lymphome lymphoblastique paternel). Le délai diagnostique médian est de cinq mois (rang 0-48). Au diagnostic, 18 % des patients ont des signes B, 55 % un syndrome tumoral, 45 % une atteinte extraganglionnaire, en particulier cutanée (36 %). 20 % des patients ont une infection au diagnostic. En médiane, la lymphocytose est de 22,1 G/L et l'infiltration médullaire est de 61 % sur le myélogramme. Un patient a un syndrome d'activation macrophagique. Six patients ont eu un caryotype avec pour anomalies les plus fréquentes un caryotype complexe (3/6), une anomalie des chromosomes 14 (5/6) et 8 (4/6). Le suivi médian est de 20 mois. Le nombre médian de lignes thérapeutiques est de 1 (0-4). En première ligne, quatre patients ont reçu du cyclophosphamide, trois de la pentostatine, deux de l'alemtuzumab et un patient du Chloraminophène. Un patient n'a pas reçu de traitement en raison d'un syndrome coronarien aigu avant le début du traitement. Le taux de réponse globale est de 70 %, le taux de réponse complète (RC) de 0 % (absence d'évaluation médullaire pour certains patients). Le taux de rechute est de 71 %. Un patient a été allogreffé en deuxième ligne (après progression sous alemtuzumab en 1^{re} ligne) avec obtention d'une RC (DOR 15 mois), puis a été traité par pentostatine et DLL en troisième ligne avec obtention d'une deuxième RC. La SG médiane est de 20 mois, la survie sans progression médiane de 16 mois. Les deux principales causes de décès sont les progressions (4) et les infections (3). 90 % des patients ont eu une complication infectieuse durant le suivi. Quatre seconds cancers (un LBDGC, un lymphome cérébral primitif EBV+, un cancer colorectal, un carcinome spinocellulaire cutané) ont été observés chez trois patients.

Conclusion. Cette étude confirme la rareté de la LPT ainsi que son mauvais pronostic. L'alemtuzumab, recommandé par le dernier consensus d'expert, reste peu utilisé en pratique dans notre centre, du fait d'une réticence liée au risque infectieux et d'un problème d'accessibilité (ATU nominative en deuxième ligne en France) ; la pentostatine semble une alternative intéressante. Les complications liées à l'immunosuppression (infections et seconds cancers) sont fréquentes. Des études prospectives et multicentriques sont nécessaires.

11-15 Effets indésirables cardiovasculaires des médicaments indiqués dans la leucémie lymphoïde chronique : méta-analyse d'essais cliniques et analyse de disproportionnalité dans la base mondiale de pharmacovigilance Vigibase

T. Pacheco-Páez¹, C. Conte^{*2}, V. Rousseau², M. Pajjep², V. Lévy³, L. Ysebaert⁴, J.L. Montastruc², F. Despas²

¹ Clinical Pharmacology, Universidad de La Sabana, Chōa, Colombie ; ² Pharmacologie clinique et médicale, CHU Toulouse, UMR 1027 Inserm, université Paul Sabatier, Inserm CIC 1436, Toulouse ; ³ Hématologie, hôpital Avicenne, Bobigny ; ⁴ Hématologie clinique, IUCT Oncopole, Toulouse

Introduction. La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la leucémie la plus fréquente. Au cours des dernières années de nouvelles cibles pharmacologiques ont été identifiées aboutissant à la mise sur le marché de nouveaux médicaments [la tyrosine kinase de Bruton (BTK) (ibrutinib et acalabrutinib), la phospho-inositide 3'-kinase (PI3K) (idélalisib) et la protéine BCL2 (vénétoclax)]. Ces médicaments représentent une avancée majeure dans le traitement des patients atteints de LLC. Cependant, le nombre réduit de patients et la courte durée de suivi des principaux essais cliniques limitent l'évaluation des effets indésirables de ces médicaments. L'objectif de cette étude était d'évaluer le risque cardiovasculaire associé aux médicaments indiqués dans la LLC (ibrutinib, idélalisib, acalabrutinib ou vénétoclax) en utilisant les données des essais cliniques ainsi que la base mondiale de pharmacovigilance (Vigibase[®]).

Matériels et méthodes. Une revue systématique des essais cliniques et une méta-analyse ont été conduites dans l'objectif de quantifier le risque

d'effets indésirables cardiovasculaires dans les essais cliniques. Cette analyse a été complétée par une étude cas/non-cas réalisée à partir des notifications spontanées enregistrées dans la base mondiale de pharmacovigilance de l'Organisation mondiale de la santé, Vigibase[®]. Ainsi, le risque de déclaration des effets indésirables cardiaques et vasculaires entre 2010 et 2018 a été déterminé en calculant le ROR (rapport de côtes de notifications) de l'ibrutinib, de l'acalabrutinib, de l'idélalisib et du vénétoclax, comparativement à tous les autres médicaments de la base de données.

Résultats. Les résultats de la méta-analyse montrent que l'ibrutinib est associé à un risque 3,7 fois plus élevé d'effets indésirables cardiovasculaires par rapport aux comparateurs dans les essais cliniques (≈ 300 patients inclus dans chaque essai clinique). Les résultats étaient similaires lorsque les effets indésirables cardiaques et vasculaires étaient analysés séparément et montrent un risque accru de fibrillation auriculaire et d'hypertension. Ce risque accru a été confirmé à partir des données mondiales de pharmacovigilance pour les effets indésirables cardiovasculaires de l'ibrutinib. Un risque accru de déclaration d'effets indésirables cardiaques a été identifié pour l'ibrutinib (ROR = 3,06 ; IC95 % : [2,81-3,21]), mais aussi pour l'acalabrutinib (ROR = 2,66 ; IC95 % : [1,27-5,58]), l'idélalisib (ROR = 1,31 ; IC95 % : [1,16-1,49]) et le vénétoclax (ROR = 1,34 ; IC95 % : [1,13-1,60]). Pour les effets indésirables « vasculaires », seul l'ibrutinib a présenté un ROR significatif (ROR = 1,76 ; IC95 % : [1,66-1,86]).

Conclusion. En conclusion, cette étude menée selon une approche multi-source (essais cliniques et données de vraie vie), montre des résultats cohérents concernant le risque accru d'effets indésirables cardiovasculaires associés à l'ibrutinib. D'autres études pharmacoépidémiologiques utilisant d'autres bases de données et d'autres méthodes sont nécessaires pour évaluer le faible risque d'effets indésirables cardiaques associé à l'acalabrutinib et au vénétoclax identifiés dans notre étude.

11-16 Quantification de la maladie résiduelle par séquençage haut débit des régions IGHV dans la leucémie lymphoïde chronique

M. Dupont^{*1}, A. Saint-Amand², P. Derouault³, M. Boulon¹, N. Dmytruk⁴, J. Chauzeix¹, J. Feuillard¹, N. Gachard¹, D. Rizzo¹

¹ Hématologie biologique, CHU Limoges, Limoges ; ² Contrôle de la réponse immunitaire et lymphoproliférations, UMR CNRS 7276/UMR Inserm 1262, Limoges ; ³ Biochimie et génétique moléculaire, CHU Limoges, Limoges ; ⁴ Hématologie clinique et thérapie cellulaire, CHU de Limoges Dupuytren, Limoges

Introduction. L'étude de la maladie résiduelle (MRD) dans la LLC est actuellement réservée à certains protocoles cliniques. Avec l'avènement des nouvelles thérapeutiques disponibles dans cette pathologie (ibrutinib, vénétoclax, obinutuzumab...), la négativation ou la diminution de la MRD sous le seuil de 10⁻⁴ devient un critère décisionnel pour la prise en charge du patient. Actuellement, la MRD est réalisée par cytométrie en flux (CMF) huit couleurs mais cette technique impose de travailler sur des cellules fraîches, l'acquisition peut être longue, très consommatrice en prélèvement et les anticorps restent onéreux. Le réarrangement VDJ unique à chaque lymphocyte B constitue le marqueur moléculaire idéal.

Matériels et méthodes. Les régions VDJ ont été amplifiées entre les loci FR1 et JH par PCR multiplex (amorces BIOMED-2). Une seconde PCR a permis l'indexage des différents échantillons. Le séquençage a été réalisé sur un appareil de type Illumina MiSeq. La sensibilité a été évaluée de deux manières : d'abord à l'aide d'une gamme de dilution d'ADN de LLC dans de l'ADN non tumoral puis à l'aide d'une gamme de dilution de sang de patients LLC directement dans du sang de témoin sain avant l'extraction d'ADN. Les amplifications ont été réalisées à partir de 500 ng et jusqu'à 750 ng d'ADN. Au total, 14 clones de LLC avec différents réarrangements VDJ ont été testés. En parallèle, la spécificité de la méthode a été vérifiée sur une série de 19 témoins négatifs. L'annotation des séquences a été obtenue à l'aide de l'outil HighV-Quest (www.IMG. org).

Résultats. Avec les deux approches de dilution utilisées, nous avons obtenu une linéarité des différentes concentrations testées allant de 10⁻¹ à 10⁻⁴. Au seuil de sensibilité de 10⁻⁴, le nombre de reads obtenu est compris entre 13 et 581 sur 600 000 reads totaux en moyenne par échantillon. Les 14 clones différents de LLC ont tous été amplifiés, ce qui a permis de valider le set d'amorces utilisé. De plus, les séquences des 14 LLC connues n'ont pas été retrouvées chez les 19 témoins négatifs.

Discussion. Nous avons pu atteindre le seuil de 10⁻⁴ en ayant un nombre de reads suffisants pour permettre une interprétation des résultats. La spécificité de la technique a été montrée avec l'absence de reads des séquences LLC connues au sein des échantillons négatifs.

Une première estimation en coûts/réactifs est de l'ordre de 80 euros par échantillon. Cette technique est facilement standardisable et peut être appliquée aux autres lymphopathies B (notamment les lymphomes à cellules du manteau). La sensibilité de 10⁻⁶ pourrait être atteinte en théorie, en augmentant à la fois la quantité d'ADN initial et le nombre total de reads à générer et donc le coût de séquençage par échantillon.

Conclusion. Nous démontrons la faisabilité d'un suivi de MRD par séquençage haut débit, grâce à un set d'amorces largement validées et dont la sensibilité pourrait être adaptée aux critères requis pour les nouveaux protocoles thérapeutiques.

11-17 Intérêt de l'évaluation par TEP-scanner avant un traitement par ibrutinib dans la leucémie lymphoïde chronique : corrélations cliniques, biologiques, et pronostiques

S. Kanoun¹, S. Ken², L. Oberic³, L. Ysebaert⁴

¹ Médecine nucléaire, IUCT Oncopole, Toulouse ; ² Département d'imagerie médicale, IUCT Oncopole, Toulouse ; ³ Hématologie, IUCT Oncopole, Toulouse ; ⁴ Hématologie clinique, IUCT Oncopole, Toulouse

Introduction. Avant la mise sous ibrutinib, les recommandations internationales ne préconisent pas la réalisation d'une tomodesintométrie par émission de positons (TEP) au 18-FDG, sauf en cas de suspicion de syndrome de Richter. La LLC non accélérée est considérée peu avide au traceur (SUV_{max} médian de 3,5 dans deux larges études), mais nous n'avons pas de données concernant l'intérêt de la TEP pendant un traitement par ibrutinib. Nous rapportons notre expérience monocentrique de la TEP chez 34 patients inclus dans une étude d'évaluation pharmacocinétique et par imagerie corps entier de l'efficacité en vraie vie de l'ibrutinib (NCT02824159).

corrélation nette avec la masse tumorale. Les analyses sous traitement de la TEP à 1, 12 et 24 mois seront présentées lors du congrès.

11-18 Leucémie lymphoïde chronique du sujet jeune : caractéristiques cliniques et évolutives à propos d'une étude de cohorte rétrospective

F. Talbi^{*1}, M. Abbadi², M. Djilali², K. Belateche¹, A. Ghassoul¹, S. Menouer¹, S. Belakehal¹, F. Ardjoun¹, K. Djouadi¹

¹ hématologie, hôpital central de l'armée DR Mohamed Seghir Nekkache, Alger, Algérie ; ² Hématologie, HCA, Alger Centre, Algérie

Introduction. La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est une pathologie du sujet âgé (âge moyen : 72 ans) ; la littérature indique, qu'au moment du diagnostic, seulement 7 % des patients sont âgés de moins de 50 ans et 10 % de moins de 55 ans. La LLC du sujet jeune présente quelques caractéristiques : forme agressive avec un pronostic plus défavorable.

Patients et méthodes. Sur n = 147 patients présentant une LLC pris en charge dans notre structure, n = 9 pts âgés < 50 ans (6 %) et n = 19 (13%) < 55 ans, nous avons analysé leurs caractéristiques cliniques et évolutives, le test du Chi-carré est utilisé pour comparer les pourcentages (p < 0,05 : significatif).

Résultats. Les caractéristiques cliniques et évolutives de nos patients sont relevées dans les *tableaux 1 et 2.*

PARAMÈTRE	AGE	n (%)	RR + IC A 95%	Valeur p	
Sexe (M) → n=107	<55 ans (n=19)	13 (13%)	0,44-3,62	0,64 (ns)	
Stade de Binet	A (n=66)	<55 ans (n=19) ≥ 55 ans (n=128)	06 (09%) 60 (91%)	-	
	B (n=34)	<55 ans (n=19) ≥ 55 ans (n=128)	05 (15%) 29 (85%)		
	C (n=47)	<55 ans (n=19) ≥ 55 ans (n=128)	08 (17%) 39 (11%)		0,44 (ns)
		Cytopénies auto-immunes (HAI) n=10	<55 ans (n=19) ≥ 55 ans (n=128)		03 (30%) 07 (70%)
Abstention (n=59)	<55 ans (n=19) ≥ 55 ans (n=128)	05 (8%) 54 (92%)	0,83-7,16	0,08 (ns)	
	Poly CT (n=56)	<55 ans (n=19) ≥ 55 ans (n=128)	14 (25%) 42 (75%)	0,07-5,09	0,002(s)
Tab II : Résultats thérapeutiques des protocoles avec Fludarabine ajustés sur l'âge (n=42)					
Protocole CT/ Fludarabine (n=42)	<55 ans (n=19) ≥ 55 ans (n=128)	05 (12%) 37 (88%)	0,38-3,44	0,81 (ns)	
	RC (n=8)	<55 ans (n=19) ≥ 55 ans (n=128)	05 (62%) 03 (38%)	1,62-14,75	0,02 (s)
SG à 3 ans		<55 ans (n=19) ≥ 55 ans (n=128)	62 54	-	0,52 (ns)

Patients et méthodes. Trente-quatre patients (huit en 1^{re} ligne, 26 en rechute) ont été inclus dans cette analyse et exposés à l'ibrutinib > 3 mois, incluant 24 hommes et 10 femmes, âgés de 49-85 ans (médiane 70 ans), avec chez 13/26 cas des LDH augmentées (et chez 3/14 une β2-microglobuline > 5 mg/L), avec un stade de Binet A/B/C chez 2/14/18 cas, une délétion 11q/17p chez 16/12 patients, statut IgHV non muté chez 28 patients, et caryotype complexe chez 11 patients. Ils ont tous bénéficié d'une évaluation prétraitement puis à un mois, à 12 mois et à 24 mois de traitement. Les résultats de l'analyse de la TEP initiale (SUV_{max}) sont présentés dans cet abstract.

Résultats. Tous les patients ont une maladie 18-FDG avide, mais avec des SUV_{max} compris entre 1,64-17,98 (médiane 3,56), 5/34 ont des SUV < 5. Le niveau de SUV_{max} ne corrèle avec aucun paramètre clinique ou biologique préthérapeutique, à l'exception notable du statut IgHV muté (SUV_{max} médian 2,16 versus 3,9 si IgHV non muté, Mann-Whitney test p = 0,0008), ce qui correspond à la gravité de la maladie. Le SUV_{max} ne corrèle pas avec la survie sans progression ou la survie globale avec un recul médian de 31 mois. Six patients sont décédés : deux d'un second cancer (deux carcinomes, un cutané métastatique et un ORL (SUV_{max} initiaux de 2,32 et 3,55 respectivement)), et quatre d'un syndrome de Richter (SUV_{max} initiaux de 3, 3,75, 4,3 et 17,98 respectivement), dans un délai de 3-11 mois de prise d'ibrutinib chez les quatre patients.

Conclusion. Avant la mise sous ibrutinib, le SUV_{max} à la TEP n'est pas prédictif de la réponse dans notre cohorte, mais n'a pas non plus de

Conclusion. Contrairement à ce qui est rapporté par certains auteurs, dans notre étude, la distribution est homogène entre les deux gpes (< vs ≥ 55 ans) concernant le sexe (H/F), p = 0,64, le stade de Binet, p = 0,44, la fréquence des cytopénies auto-immunes : p = 0,14, la survie globale (p = 0,52). Le pourcentage des sujets qui ont bénéficié d'une polyCT (comportant la fludarabine) est plus important dans le premier groupe : p = 0,002, avec de meilleurs résultats (RC : p = 0,02).

11-19 Résultats thérapeutiques du protocole rituximab + fludarabine + cyclophosphamide en première ligne dans la leucémie lymphoïde chronique : étude multicentrique

N. Dali^{*1}, H. Ait-Ali¹, A. Tibiche², S. Taoussi³, MT Abed³, M. Bradai³, R. M. Hamladji R. Ahmed Nacer

¹ Service d'hématologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie ; ² Service d'épidémiologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie ; ³ Service d'hématologie, Centre anticancer, Blida, Algérie

Introduction. La prise en charge thérapeutique de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) a fait l'objet de nombreuses innovations depuis plus de 10 ans avec l'utilisation de nouveaux marqueurs pronostiques et de nouvelles molécules. Toutefois, le régime RFC reste le gold standard thérapeutique chez les patients fit, sans del(17p) et sans

comorbidités significatives d'où l'intérêt de notre étude pour l'évaluer en termes de réponses, survie globale, SSP et toxicités.

Patients et méthodes. Il s'agit d'étude rétrospective, multicentrique, portant sur 65 patients atteints de LLC traités en première intention par l'association rituximab + fludarabine + cyclophosphamide (RFC), recrutés sur une période de 43 mois aux services d'hématologie du CAC de Blida, du CHU de Tizi Ouzou et du CPMC d'Alger. Le diagnostic a été posé sur l'hémogramme et la cytologie et confirmé par un immunophénotypage lymphocytaire sur cytométrie en flux. La del(17p) qui est le critère d'exclusion dans notre travail a été recherchée systématiquement. Le protocole RFC comporte : le rituximab à raison de 375 mg/m² J0 au cycle un puis 500 mg/m² les cycles suivants, la fludarabine à 25 mg/m² IV ou 40 mg/m² en per os J1 à J3 et le cyclophosphamide à 250 mg/m² pour un total de six cures. Une prophylaxie systématique par le Bactrim forte et aciclovir pendant au moins six mois voire plus. L'évaluation du traitement des patients est faite selon les critères du NCI et la date de point est réalisée le 31 décembre 2017.

Résultats. Sur les 65 patients, on comptait une majorité d'hommes 54 (83 %) avec un sex-ratio H/F à 4,90. L'âge médian est de 58 ans [32 à 69]. 31 pts (48 %) étaient au stade B et 34 (52 %) au stade C de Binet. Une moyenne de 5,4 cures de RFC (1-6) était reçue par patient. Le nombre moyen de cures de RFC reçues par pts au stade B de Binet est de 5,71 versus 4,94 cures de RFC chez les pts au stade C avec une différence significative (P = 0,023). 18/65 pts (28 %) n'ont pas complété les six cycles de RFC recommandés. L'interruption prématurée du traitement était observée chez des pts suite aux cytopénies persistantes principalement les neutropénies dans 14 cas/18 (78 %). L'arrêt précoce du traitement était significativement associé à un stade avancé (14 cas/18) 78 % au stade C de Binet versus (quatre cas/18) 22 % au stade B (P = 0,042) et à un âge de 60 ans (13 cas/18) 72 % de pts 60 ans versus (cinq cas/18) 28 % (P = 0,006). La dose prévue de FC a été réduite de plus de 10 % chez 37 % de pts. La durée moyenne de l'aplasie post-RFC des pts ayant reçu le G-CSF (38 pts) était de 10,58 j et celle des pts n'ayant pas bénéficié le G-CSF de 18,20 (P = 0,05). La réponse objective a été obtenue chez 51 pts/55 (93 %) avec un taux de RC (RC/RCi) de 71 %, RPN de 13 % et RP de 9 %. L'échec/progression a été observé dans 7 % des cas. La SG est de 71,1 % à 55 mois et la SSP est de 55,6 %. Les toxicités hématologiques précoces, principalement les cytopénies G3-4, notamment la neutropénie, l'anémie et la thrombopénie ont été constatées respectivement dans 53 % ; 8 % et 4 % des cas. Sept sur 51 pts en réponse (13,7 %) ont rechuté. Neuf pts/65 (14 %) sont décédés dont six décès (9 %) étaient liés aux effets toxiques du traitement.

Conclusion. Nos résultats encourageants peuvent être améliorés mais par le diagnostic précoce (hémogramme systématique) et l'amélioration de la réanimation hématologique.

11-20 Caractéristiques cliniques, biologiques et cytogénétiques de la leucémie lymphoïde chronique : étude multicentrique

N. Dali^{*1}, H. Ait-Ali¹, A. Tibiche², S. Taoussi³, M.T. Abed³, M. Bradai³, R.M. Hamladji, R. Ahmed Nacer

¹ Service d'hématologie, CHU de Tizi Ouzou, Algérie ; ² Services d'épidémiologie du CHU de Tizi Ouzou ; ³ Service d'hématologie du centre anticancer de Blida, Algérie

Introduction. La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est une hémopathie maligne caractérisée par une prolifération monoclonale et une accumulation de lymphocytes B matures dans le sang, la moelle osseuse et les organes lymphoïdes. L'objectif de notre étude est de préciser les caractéristiques cliniques, biologiques et cytogénétiques de celle-ci chez une cohorte multicentrique de patients traités.

Patients et méthodes. Dans cette étude rétrospective, multicentrique, nous avons inclus 65 patients atteints de LLC, naïfs de tout traitement, éligibles au protocole RFC. Les patients sont recrutés sur une période de 43 mois (juin 2013 à décembre 2016) aux services d'hématologie du CAC de Blida, du CHU de Tizi-ouzu et du CPMC d'Alger. La collecte des données s'est faite sur des dossiers médicaux et fiches de consultation.

Résultats. Sur l'ensemble de la cohorte, on comptait une majorité d'hommes : 54 (83 %) avec un sex-ratio H/F : 4,90. L'âge médian au diagnostic est de 58 ans (35-69). La profession d'agriculteur a été la plus fréquemment retrouvée (11 %). 27 pts (42 %) présentaient des comorbidités mais avec un score CIRSC < 6 (0 à 5). Le délai médian de diagnostic est de six mois. Le syndrome tumoral a été le premier motif de consultation (34 cas soit 52 %). 23 pts (35 %) ont présenté des signes généraux. Une infection dans 15 cas (23 %) à prédominance bactérienne (12/15 : 80 %). Le syndrome tumoral était présent chez 64 pts (98 %). La forme *bulky* définie par des adénopathies ≥ 10 cm dans huit cas (10-18 cm) et une Splénomégalie ≥ 6 cm est notée dans 34 cas (52 %). Le taux de GB moyen est de 181 305 elts/mm³ (11 400-991 000) et celui des lymphocytes de 134 000 elts/mm³ (10 950-597 342) ; le taux d'Hb est < 10 g/L dans 34 % (22 pts) des cas et celui des plaquettes est < 100 000 elts/mm³. L'analyse cytotogénétique des lymphocytes sur FS

retrouve 80 % (52 cas/65) de LLC typique et 20 % (13 cas/65) de LLC forme variante. Selon la classification FAB. Le pourcentage moyen d'ombres de Gümprécht était de 23,18 (1-64). L'immunophénotypage par CMF a mis en évidence un score de Matutes de 5/5 pour 66 % (43 cas) de pts, 4/5 pour 29 % (19 cas) et 3/5 pour 5 %. Le CD38 était exprimé chez 31 pts (48 %). 78 % (39/50 pts) présentaient une B2 ≥ 3,5 mg/L. Une hypogammaglobuline (< 7 g/L) dans 23 % des cas (15 pts). L'étude anatomopathologique de la BOM a objectivé une infiltration massive et diffuse dans 70 % (44/63 pts) et 30 % (19/63 pts) non diffuse. Selon la classification de Binet, 31 pts classés au stade B (47,7 %), 34 pts (52 %) au stade C. La del(17p) était négative chez les 65 pts (c'est l'un des critères d'inclusion dans l'étude). La del(11q) a été retrouvée dans 23 % des cas (15/65 pts). Les autres anomalies récurrentes ont été objectivées chez 24 pts/29 (83 %) : del(13q14) : 14 cas (48 %), la trisomie 12 : 10 cas (34 %) et la del(6q) dans un cas (8 %).

Conclusion. La LLC en Algérie occupe la cinquième place parmi les hémopathies. Son incidence est faible (0,77/100 000/hbts). La symptomatologie est marquée par un syndrome tumoral qui est quasi constant et dominé par les formes *bulky*, en l'occurrence dans notre série de patients.

11-21 Profil diagnostique et évolutif de la leucémie lymphoïde chronique du sujet âgé : à propos de 26 observations au service d'hématologie clinique de l'hôpital Dalal Jamm

FS. Ndiaye*, S. Fall, D. Fatma

Hématologie clinique, CHU Dalal Jamm, Dakar

Introduction. La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est une hémopathie maligne, qui intègre les syndromes lymphoprolifératifs matures B, peu rapportée en Afrique subsaharienne et au Sénégal.

Objectif. Décrire le profil épidémiologique, diagnostique, thérapeutique et évolutif observé dans nos pratiques de prise en charge des patients atteints de LLC.

Patients et méthodes. Il s'agissait d'une étude rétrospective (2011-2019), transversale qui a inclus des dossiers de malades suivis pour une LLC dans les services d'Hématologie Clinique de l'Hôpital Dantec et Dalal Jamm.

Résultats. Nous avons colligé 26 observations chez 17 hommes et neuf femmes qui avaient un âge moyen de 62 ± 4,24 ans. Les circonstances de découverte étaient un syndrome tumoral (69,2 %) ou une hyperlymphocytose (30,8 %). Les comorbidités étaient une HTA (deux cas), un diabète (deux cas), une dyslipidémie (un cas) et une maladie de système (un cas). L'examen clinique notait une polyadénopathie (11,53 %), une splénomégalie (7 %) et sans hépatomégalie, une anémie (80,76 %), une infection (19,23 %). L'hémogramme objectivait un taux moyen de lymphocyte de 173,61 ± 3,89 G/L, d'hémoglobine de 9,3 ± 0,35 g/dL et de plaquettes de 151,96 ± 19,7 G/L. Le test direct à l'antiglobuline était positif dans quatre cas et les anticorps antiplaquetaires dans un cas. Sur le plan pronostic les malades étaient aux stades avancés B et C de Binet dans 84,61 % des cas, et avaient une anomalie cytogénétique dans cinq cas dont un cas de del(17p). Sous chimiothérapie (24 cas), immunochimiothérapie (deux cas), antibiothérapie préventive (26 cas). Les malades vivants étaient en rémission partielle (cinq cas), en progression (deux cas) et en guérison (un cas). Huit malades étaient décédés et sept perdus de vue. Les complications étaient une infection (sept cas) et un syndrome de Richter (deux cas).

Conclusion. Dans notre étude, la LLC est diagnostiquée chez le sujet d'âge, à un stade avancé polysymptomatique, avec de mauvais facteurs pronostiques. Améliorer la survie des malades nécessite une accessibilité des explorations moléculaires et du traitement innovant.

11-22 Aspects diagnostiques, thérapeutiques et évolutifs de la leucémie lymphoïde chronique au service d'hématologie clinique du Centre national de transfusion sanguine de Dakar

M. Seck*, ES. Bouso, BF. Faye, SA. Toure, N. Dieng, M. Keita, A. Sall, FAO. Touré, S. Diop

Hématologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal

Introduction. La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est un syndrome lymphoprolifératif fréquent du sujet âgé avec un âge médian au diagnostic autour de 72 ans. En Afrique subsaharienne, la LLC reste une affection rare et souvent diagnostiquée au stade tardif. L'objectif de cette étude était de décrire les aspects diagnostiques, thérapeutiques et évolutifs de la LLC au service d'Hématologie Clinique du CNTS de Dakar.

Patients et méthodes. Il s'agissait d'une étude rétrospective portant sur 18 cas de LLC suivis entre février 2011 et juin 2019 avec une durée moyenne de suivi de 18 mois. Ont été inclus les patients qui présentaient une LLC confirmée par l'hémogramme et l'immunophénotypage, suivis depuis plus de trois mois. Les aspects diagnostiques, thérapeutiques et évolutifs étaient étudiés à travers les dossiers de suivi des patients.

Résultats. L'âge moyen des patients était de 64,28 ans (54-85 ans). Le sex-ratio (M/F) était de 1,57. Selon les aspects diagnostiques, le syndrome tumoral (44,4 %) était le motif de consultation le plus fréquent, le taux moyen de lymphocytes était de 119 414/mm³, le frottis sanguin était typique de LLC dans 64,3 % des cas, le score de Matutes était de 5/5 chez 61,1 % et de 4/5 (22,2 %) et 72 % des patients étaient au stade C de Binet. Les complications liées à la maladie étaient dominées par les infections (84,6 %), les cytopénies auto-immunes (5,5 %) et l'insuffisance médullaire (5,5 %). La monochimiothérapie (44,4 %) était le plus utilisée, suivie du protocole CHOP (22,2 %) et du R-CHOP (16,7 %). Selon l'évolution, la rémission partielle était observée dans 25 % des cas alors que la rémission complète n'était observée que chez 6,2 % des patients, 61 % des patients étaient décédés et 28 % étaient perdus de vue ; la survie globale à cinq ans était estimée à 44,5 % et la survie sans événement à cinq ans de 32,4 %.

Conclusion. Nous confirmons à travers cette étude que la LLC reste une hémopathie maligne au pronostic sévère et diagnostiquée aux stades avancés en Afrique. Une étude sur une cohorte plus étendue permettrait de mieux caractériser les facteurs de risque de décès chez ces patients.

11-23 Prise en charge thérapeutique de la leucémie lymphoïde chronique chez les patients âgés ou unfit au service d'hématologie du CHU de Tizi Ouzou

N. Boulaziz¹, N. Dali¹, M. Allouda¹, K. Ait-Ahmed¹, K. Ait-Seddik¹, S. Gherras¹, H. Aftisse¹, A. Graine¹, A. Tibiche², H. Laga¹, D. Amirouche¹, H. Ait-Ali¹

¹ Hématologie, CHU Nedir Mohamed, Tizi Ouzou, Algérie ; ² Epidémiologie CHU Nedir Mohamed, Tizi Ouzou, Algérie

Introduction. La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la plus fréquente des leucémies chroniques, qui atteint principalement le sujet âgé de plus de 60 ans. L'évaluation gériatrique et la recherche de comorbidités prennent toute leur importance chez les patients (pts) non éligibles au traitement par RFC et considérés comme fragiles (unFit). L'obtention d'une qualité de vie elle-même, dépendante de la réponse est un objectif essentiel. L'objectif de notre étude est d'évaluer la réponse et la tolérance au traitement de première ligne, la SG et la SSP des pts.

Patients et méthodes. Il s'agit d'étude rétrospective, descriptive, monocentrique, étalée de janvier 2013 à décembre 2017 (cinq ans). Nous avons colligé 42 pts (57 %) âgés ou unfit parmi les 73 pts atteints de LLC. Le diagnostic a été posé sur l'hémogramme et la cytologie, et confirmé par l'immunophénotypage lymphocytaire sur cryométrie en flux. Selon la classification de Binet, trois groupes pronostiques ont été stratifiés. Les caractéristiques de ces pts et leur devenir ont été étudiés en fonction du choix thérapeutique, du traitement de première ligne définissant ainsi trois groupes de patients : abstention thérapeutique, monochimiothérapie et immunochimiothérapie. L'évaluation a été faite en novembre 2019.

Résultats. C'est une analyse rétrospective menée sur 42 pts : 26 hommes et 16 femmes avec un ratio de 1,62. L'âge médian est de 75 ans [68 à 92 ans]. Le délai médian diagnostic est de six mois (01-26 mois). Le symptôme révélateur était principalement la lymphocytose sanguine chez 22 pts (52 %). 38 pts (90 %) avaient un score ECOG 0-1, 32 (76 %) un indice gériatrique (CIRS) < 6 (CIRS médian à 4) et 30 pts (71 %) avaient au moins une comorbidité. Un syndrome tumoral a été retrouvé dans 28 cas (66 %). Le taux médian de GB est de 55 000/mm³ (10 600/mm³ -313 000/mm³) et celui de la lymphocytose à 53 100/mm³. Un score de Matutes à 5 a été observé chez 34 pts (81 %) et un CD38 positif chez 27 pts (64 %). Selon la classification de Binet, 22 pts (52 %) étaient au stade A, cinq (12 %) au stade B et 15 (36 %) au stade C. Du point de vue thérapeutique, l'abstention thérapeutique était l'attitude chez 16 pts (38 %) au stade A non évolutifs. Les 26 pts (62 %) au stade A et B évolutifs ainsi que le stade C de Binet ont conforté l'administration du protocole : R-bendamustine : six pts (23 %), R-chlorambucil : trois pts (12 %), chlorambucil : 12 pts (46 %) et cyclophosphamide-cortancyl : cinq pts (19 %). 20 pts ont été retenus pour l'évaluation (six pts décédés au cours du traitement). Dans le groupe immunochimiothérapie (neuf évaluables), le taux de réponse globale est de 100 % dont 44 % de RC et 56 % de RP. Dans le groupe monochimiothérapie (11 pts évaluables), le taux de réponse objective est de 63 % dont 27 % de RC et 36 % de RP. Les toxicités hématologiques précoces, principalement les cytopénies G3-4, notamment la neutropénie, l'anémie et la thrombopénie ont été constatées respectivement dans 31 %, 27 % et 4 % des cas. Les taux d'infections ont été enregistrés dans 35 % des cas (neuf pts) dont 66 % de localisation pulmonaires. La SG est de 67 % à deux ans, 63 % à sept ans. La SSP à sept ans est de 62 % avec une médiane non atteinte.

Conclusion. Malgré notre cohorte réduite et l'hétérogénéité des traitements reçus, nous avons constaté une meilleure réponse thérapeutique avec l'immunochimiothérapie, notamment avec le protocole R-bendamustine qui représente actuellement la meilleure option thérapeutique chez les sujets âgés ou unfit au prix d'une toxicité moindre, offrant ainsi une meilleure qualité de vie.

11-24 Prise en charge thérapeutique de la leucémie lymphoïde chronique chez les patients éligibles au rituximab-fludarabine-cyclophosphamide au service d'hématologie du CHU de Tizi Ouzou

N. Boulaziz^{*}, N. Dali, M. Allouda, F. Ait Ahmed, K. Ait Seddik, H. Aftisse, S. Gherras, H. Ait Ali

Hématologie, CHU Nedir Mohamed, Tizi Ouzou, Algérie

Introduction. D'importants progrès thérapeutiques ont été réalisés dans la prise en charge de la leucémie lymphoïde chronique mais l'avancée la plus significative est venue de l'association d'un anticorps monoclonal le rituximab à la chimiothérapie fludarabine-cyclophosphamide (FC). L'immunochimiothérapie (RFC) avait permis d'obtenir des taux de réponses complètes élevées, une MDR indétectable et une amélioration à la fois de la SG et de la SSP. L'objectif de notre travail est d'évaluer le RFC en termes de réponses, de SG, de SSP et d'estimer sa toxicité.

Patients et méthodes. C'est une étude rétrospective, descriptive, monocentrique, étalée de janvier 2013 à décembre 2017 (cinq ans) où nous avons colligé 19 pts éligibles au RFC parmi les 73 pts atteints de LLC. Le diagnostic a été posé sur l'hémogramme et la cytologie, et confirmé par la CMF. Nos pts ont été stratifiés en trois groupes pronostiques selon la classification de Binet. L'indication thérapeutique a été posée selon les recommandations de l'IWCLL. Tous les pts traités ont reçu le RFC associé à une antibioprophylaxie. L'évaluation a été faite en novembre 2019.

Résultats. Cette analyse rétrospective a porté sur 19 pts : 11 hommes et huit femmes avec un ratio de 1,4. L'âge médian est de 62 ans [34 à 69 ans]. Le délai médian de diagnostic est de six mois. Le mode de révélation est dominé par le syndrome tumoral (63 %). 16 pts (84 %) avaient un score ECOG = 0 et un CIRS < 4 avec un CIRS médian à 2. Tous nos pts ont présenté un syndrome tumoral avec une forme *bulky* chez six pts (32 %). Le taux médian de GB est de 69 900/mm³ (10 000/mm³ à 323 000/mm³) avec une lymphocytose médiane à 60 000/mm³. L'immunophénotypage par CMF a mis en évidence un score de Matutes 5/5 pour 13 pts (68 %). L'expression du CD38 a été constatée chez huit pts (42 %). Sur les 15 pts (79 %) qui ont bénéficié d'analyse cytogénétique, aucun n'avait la del(17p) et trois ont présenté une del(11q) (20 %). Selon la classification de Binet, un pts (5 %) était au stade A évolutif, 10 (53 %) au stade B et huit (42 %) au stade C. 16 pts ont été traités au diagnostic et trois après une période de surveillance médiane de 36 mois. Sur les 19 pts traités, 16 pts sont évaluables pour la réponse [03 (15 %) décès précoce]. Une réponse globale a été obtenue dans 94 % (15 pts) des cas avec 63 % (10 pts) de RC et 31 % (cinq pts) de RP. La toxicité hématologique a été la plus fréquemment observée, principalement la neutropénie G3-4 (42 %). L'anémie et la thrombopénie G3-4 ont été constatées respectivement dans 31 % et 26 % des cas. Malgré l'importance de la neutropénie G3-4, seulement huit pts (42 %) ont présenté des infections à tropisme pulmonaire (50 %). Quatre pts (25 %) ont rechuté dans un délai médian de 20 mois (Rechute précoce). Après un délai médian de suivi de 39 mois, la survie globale est de 73 % à deux ans, de 56 % à sept ans avec un plateau après cinq ans. La SSP est de : 66 % à quatre ans, 53 % à sept ans. La médiane de SG et de SSP n'est pas atteinte.

Conclusion. Nos résultats thérapeutiques sont encourageants. Cependant, la mortalité liée au traitement dans notre série est plus importante par rapport à la littérature (15 % dans notre série versus 2 à 5 % dans la littérature), elle est due essentiellement à la fréquence des stades C. Néanmoins, le meilleur moyen de réduire l'exposition à la chimiothérapie, réduisant potentiellement les complications est la quantification de la MRD qui présente une meilleure prédiction de la valeur pronostique en termes de SG et de SSP. De ce fait, il est indispensable de développer dans notre pays la MRD, réalisée en cytométrie en flux. L'avènement de nouvelles molécules serait souhaitable, notamment pour les patients à haut risque.

11-25 Leucémie lymphoïde chronique : étude monocentrique à propos de 73 cas

F. Ait Ahmed *, N. Dali, M. Allouda, N. Boulaziz, S. Gherras, K. Ait Seddik, H. Aftisse, H. H. Aitali

Hématologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie

Introduction. La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est une hémopathie maligne, définie par la classification OMS 2008 comme un syndrome lymphoprolifératif appartenant au groupe des néoplasies B matures. Elle atteint essentiellement le sujet âgé. Elle est caractérisée par une prolifération monoclonale et une accumulation de lymphocytes B d'aspect matures avec un envahissement sanguin et médullaire et des organes lymphoïdes secondaires.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive, monocentrique étalée sur une période de cinq ans allant de janvier 2013 à décembre 2017. 73 patients (pts) ont été répertoriés au service d'Hématologie du CHU de Tizi Ouzou. Les données clinique et biologique sont recueillies à partir des dossiers et fiches de consultation des patients.

Le diagnostic est évoqué sur l'hémogramme et la cytologie puis confirmé par l'immunophénotypage lymphocytaire sur cytométrie en flux.

Résultats. De 2013 à 2017, nous avons inclus 73 pts, 44 Hommes et 29 Femmes, le sex-ratio H/F est de 1,51. L'âge médian est de 70 ans (34-92). Le délai médian de diagnostic est de six mois. Les circonstances de découverte étaient dominées par une lymphocytose chez 37 pts (50 %). Sept pts (10 %) ont présenté des signes généraux. Une infection au diagnostic a été retrouvée chez sept pts (10 %).

Sur le plan clinique : 69 pts (95 %) ont un ECOG < 2. Un syndrome tumoral est retrouvé chez 54 pts (74 %). Des adénopathies forme bulky (> 7 cm) sont retrouvées chez huit pts (11 %).

Du point de vue biologique : Le taux de GB médian est de 54 300 e/mm³ (10 000 à 323 000) avec une lymphocytose médiane à 52 360 e/mm³, L'Hb < 10 g/dL est retrouvé dans 35 %, 29 % des pts ont un taux de plaq < 100 000 e/mm³. L'immunophénotypage par CMF a mis en évidence un score de Matutes de 5/5 pour 80 % (58 pts), de 4/5 pour 14 pts (19 %), et 3/5 chez un pt. Le CD38 était exprimé chez 42 pts (58 %). Selon la classification de Binet 48 % des pts sont au stade A, 20 % sont au stade B, et 32 % sont classés au stade C. Le test de Coombs est positif chez cinq pts. L'hypogammaglobulinémie est retrouvée chez huit pts.

Sur le plan cytogénétique : l'hybridation in situ (FISH) a été réalisée chez 15 pts (20 %). La del(17p) était négative chez les 15 pts, la del(11q) a été objectivée chez trois pts.

Conclusion. Un diagnostic précoce par la réalisation d'un hémogramme systématique, l'immunophénotypage par CMF, et les analyses moléculaires seraient notre objectif afin d'optimiser la prise en charge thérapeutique et améliorer le pronostic des patients.

11-23 Efficacité de l'immunochimiothérapie type rituximab-fludarabine-cyclophosphamide dans le traitement de la leucémie lymphoïde chronique dans le Sud tunisien

I. Frikha^{*1}, I. Turki¹, M. Charfi², F. Bensaid³, M. Medhaffer², I. Benamor², F. Kallel¹, O. Kassab⁴, M. Ghorbel⁴, L. Khalifa⁴, Y. Fakhfakh⁴, S. Hdiji¹, M. Elloumi⁴

¹ Hématologie clinique, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie ; ² Hématologie clinique, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie ; ³ Service de médecine, Hôpital régional de Gabes, Gabes, Tunisie ; ⁴ Hématologie clinique, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Introduction. Le traitement de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) par immunochimiothérapie type FCR constitue le gold standard des patients jeunes fit. A travers cette étude nous présentons la faisabilité et les résultats thérapeutiques du protocole FCR dans le Sud tunisien.

Patients et méthodes. Nous avons inclus tous les patients atteints de LLC qui sont suivis aux services d'hématologie de Sfax et de Gabes et qui sont en indication de traitement par rituximab-fludarabine-cyclophosphamide (FCR) en 1re ligne entre 2009 et 2018. Le protocole FCR consiste à six cycles mensuels : rituximab 375 mg/m² le premier cycle puis 500 mg/m² à partir de C2, fludarabine 25 mg/m²/j pendant 5 j et cyclophosphamide 200 mg/m²/j pendant 5 j. Une prophylaxie antivirale par Valaciclovir[®] et antipneumocystose par Bactrim[®] a été prescrite pour tous nos patients. Le G-CSF n'est prescrit que pour les malades ayant des PNN < 500/mm³ ou en cas de neutropénie fébrile. L'évaluation de la réponse pour tous nos patients a été réalisée à deux mois de la fin du traitement, elle comporte un examen clinique et un hémogramme. La BOM et le scanner n'ont pas été réalisés. Les critères de réponse (RC, RP, progression) sont ceux de l'IWCLL. Pour chaque patient nous avons précisé les caractéristiques diagnostiques et les résultats thérapeutiques (réponse complète : RC, réponse partielle : RP, survie globale : SG et survie sans progression : SSP).

Résultats. Nous avons colligé 29 cas de LLC traités par FCR. L'âge médian était de 54 ans (41 à 68 ans), 12 patients étaient âgés de moins de 50 ans. Une légère prédominance masculine avec un sex-ratio de 1,1. Selon la classification de Binet, nos cas étaient classés stade A agressif dans un cas (3 %), stade B avec signes d'agressivité dans 11 cas (38 %) et stade C dans 17 cas (59 %). Les résultats de l'analyse cytogénétique et de la FISH n'étaient disponibles que pour neuf patients (31 %). Elle a montré un caryotype normal dans cinq cas (56 %), une trisomie 12 dans deux cas

(22 %), la del(11q) dans un cas (11 %) et la del(17p) dans un cas (11 %). Sur les 29 cas en indication de traitement par FCR, 27 patients (93 %) avaient reçu des cures FCR standard et deux patients (8 %) avaient reçu des cures FCR lite. Une réponse globale a été notée dans 86 % des cas (RC = 69% et RP = 17%). Une toxicité hématologique est survenue dans 46 % des cures avec une neutropénie grade 3-4 dans 35 % des cas et une toxicité infectieuse dans 24 % des cas. Parmi les patients répondeurs, une progression a été notée chez 35 % des cas. La transformation en syndrome de Richter est survenue chez trois cas. Après un recul de 60 mois, la survie globale et la survie sans progression à cinq ans étaient respectivement de 66 % et de 55 %.

Conclusion. Les résultats thérapeutiques dans notre série sont meilleurs aussi bien en termes de réponse globale (86 %) que de survies (SG = 66% et SSP = 55%) par rapport aux résultats antérieurs utilisant d'autres protocoles thérapeutiques (tel que CHOP LLC, FC...). Cependant nos résultats restent inférieurs à ceux décrits dans la littérature avec des réponses globales de 90 à 95 %, des SG à trois ans de 85 à 90 % et des SSP à trois ans de l'ordre de 65 %. Ceci pourrait être expliqué en partie par le mauvais choix des patients qui peuvent en bénéficier du protocole FCR devant la non-réalisation systématique de la FISH pour la détection de la del(17p).

11-27 Évaluation de la prise en charge de la leucémie lymphoïde chronique au service d'hématologie du CHU Blida

L. Cheriflouazani^{*1}, M. Ramaoun¹, N. Brahim, H. Ouabel, A. Oukfil, I. Somatia, F. Kibou, L. Aïssou, I. Boumedjaji, D. Abdelaoui, N. Semlil, N. Bellali, I. Salhi

¹ Hématologie, CHU Blida, Blida, Algérie

Introduction. La LLC est un syndrome lymphoprolifératif chronique caractérisé par une lymphocytose sanguine, médullaire et des marqueurs de surface spécifiques. Pathologie du sujet âgé, représente la leucémie la plus fréquente dans le monde occidental, en Algérie l'incidence moyenne annuelle est faible de 0,57/100,000 habitants. Objectifs : Recenser les P, leurs caractéristiques et évaluer les résultats thérapeutiques.

Matériels et méthodes. Étude rétrospective d'avril 2015 à octobre 2019, faite sur dossiers médicaux. Date de point octobre 2019.

Résultats. Nous rapportons sur une période de 54 mois, une série de 48 P LLC pris en charge dans notre service. L'âge moyen était de 69 ans [40 et 91 ans], prédominance masculine 30 H/18 F sex-ratio de 1,66. Le délai moyen de consultation était de six mois [1 sem-24 mois]. Les CDD sont fortuites dans 17 P, un syndrome tumoral dans 10 P, des signes généraux dans 10 P, Cpt infectieuses pulmonaire a été retrouvé chez huit P. L'anémie est retrouvée chez 3 P. Le PS à 1 chez 35 P, à 2 chez 10 P et à trois chez 3. L'examen clinique : poly ADP périphériques chez 38 P, accompagnés d'une SPMG chez 17 P, d'une HPMG chez cinq P et d'une cpt infectieuse chez neuf P. FNS, FS, CMF et EDP sont réalisés chez tous les P, le taux de GB moyen 78 400/mm³ [8 800-354 000], LYM moyen 65 370/mm³ [6 400-148 000], Hb moyenne 11,3 g/dL [4,3-14], Plt moyenne 178 000/mm³ [34 000-420 000]. Matutes positif 4-5 chez 47 P. Une hypogamie chez 2. Le syndrome tumoral profond présent chez 17 P médiastinal et chez 30 P abdominal. 23 P classés stade A, 16 P stade B, neuf P stade C. Cytogénétique faite chez 2 P, P53 positif chez un P. Délai de suivi moyen des stades A est de 15 mois [1-48 mois], délai de suivi moyen avant le début du TRT est de huit mois [1-36 mois]. 34 P sont en abstention dont cinq perdus de vue, 14 P sont traités. Les protocoles utilisés sont : RFC, R-bendamustine, R-chloraminophène. Sur neuf P évaluables on a obtenu cinq RC, 2 RP et un échec et un décès.

Discussion. Notre série est petite avec peu de recul, nos P sont âgés, prédominance masculine. Environ 50 % P sont au stade A et seul 29 % sont traités. Nous avons obtenu respectivement une RG, échec et décès dans 78 %, 11 % et 11 % des cas, seuls 2 P ont bénéficié d'une étude cytogénétique.

Conclusion. La LLC est une hémopathie chronique du sujet âgé de diagnostic facile, les progrès dans la caractérisation biologique ont permis l'identification de sous-groupes pronostiques pour une prise en charge thérapeutique « ciblée », adaptée au risque d'où l'intérêt de généraliser ses explorations pour tous les patients.