

# 04 Leucémie lymphoïde chronique (biologie et clinique)

## 04-01 Caractérisation des cellules du microenvironnement ganglionnaire dans la leucémie lymphoïde chronique

R. Zaaboud\*, VB. Nadine, M. Antoine

Adaptateurs de Signalisation en Hématologie, UMR 978 INSERM/Université Paris 13, Bobigny

**Introduction.** La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est un syndrome lymphoprolifératif résultant de la prolifération la survie accrue de lymphocytes B matures CD19+CD5+. Elle est caractérisée par une accumulation des cellules tumorales dans le sang, la moelle osseuse et les ganglions lymphatiques. Dans la LLC, comme dans de nombreuses tumeurs solides tous les cancers, le dialogue entre la cellule tumorale et son microenvironnement joue un rôle majeur dans la survie et la prolifération des cellules tumorales.

**L'objectif** de notre étude est d'évaluer le rôle des cellules du microenvironnement ganglionnaire dans la rétention des lymphocytes B tumoraux.

**Patients et méthodes.** Des biopsies de ganglions de patients LLC et de sujets sains ont été utilisées pour comparer leur organisation cellulaire. Pour mieux appréhender le rôle des macrophages CD68+ retrouvés dans les ganglions, nous avons développé un système qui permet de différencier *in vitro* des cellules CD68+ dites *nurse-like cells* (NLC) à partir de PBMC issus de patients présentant une LLC et mis en culture 14 jours.

Nous avons utilisé une nouvelle approche de détection de l'ARN, basée sur la cytométrie en flux (Prime Flow RNA (Affymex)) afin d'évaluer au niveau unicellulaire la production de CCL21 par les cellules NLC.

**Résultats.** L'établissement d'une cartographie du microenvironnement nous a permis de confirmer la désorganisation de l'architecture du ganglion de LLC, caractérisée par une infiltration diffuse des lymphocytes B tumoraux exprimant le récepteur CCR7 de façon constitutive et accrue, une perte de la structuration des zones corticales folliculaires et paracorticales due à la disparition des cellules dendritiques folliculaires, et une désorganisation du réseau des cellules réticulaires fibroblastiques.

Nous avons mis en évidence sur les ganglions provenant de patients présentant une LLC, la présence de nombreuses cellules positives à la fois pour le CD68 et pour le CCL21, ligand de CCR7. Ces cellules sont retrouvées de manière beaucoup plus faible sur les échantillons ganglionnaires non tumoraux pour lesquels l'expression de CCL21 est majoritairement retrouvée sur dans les cellules réticulaires (FRC). Ces résultats suggèrent un rôle de ces cellules CD68+ dans la rétention des lymphocytes B dans les ganglions sont en accord avec des études décrivant dans des ganglions tumoraux la présence de macrophages jouant un rôle dans le maintien des cellules.

Les cellules CD68+ différenciées *in vitro* à partir de PBMC issus de patients avec de LLC ont des caractéristiques phénotypiques des similaires aux « Nurse-Like Cells » et (NLC) des macrophages associés aux tumeurs (TAM) caractérisés dans la LLC. Ces cellules expriment l'ARN de la chimiokine CCL21.

**Conclusion.** Nos travaux ont identifié une population cellulaire CD68+ qui produit la chimiokine CCL21 et qui pourrait jouer un rôle important dans la rétention des lymphocytes B qui expriment le récepteur CCR7 de manière accrue. Les interactions cellulaires entre NLC et cellules leucémiques pourraient représenter une cible thérapeutique intéressante.

## 04-02 Profil épidémiologique, clinico-biologique, cytogénétique et thérapeutique des patients suivis pour leucémie lymphoïde chronique au service d'hématologie et d'oncologie pédiatrique, hôpital 20-Août Casablanca

W. Matrane\*, M. Rachid<sup>2</sup>, S. Laajouri<sup>3</sup>, B. Oukache<sup>4</sup>, M. Qachouh<sup>1</sup>, N. Khoukila<sup>3</sup>, S. Cherkaoui<sup>3</sup>, M. Lamchahab<sup>5</sup>, M. Bendari<sup>3</sup>, A. Madani<sup>3</sup>, M. Harif<sup>3</sup>, A. Quesar<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Hématologie clinique et oncologie pédiatrique, Hôpital 20-Août, Casablanca, Maroc ; <sup>2</sup> Service d'hématologie clinique et oncologie pédiatrique, centre hospitalier universitaire Ibn Rochd, Casablanca, Maroc ; <sup>3</sup> Service d'hématologie clinique et d'oncologie pédiatrique, Hôpital 20-Août 1953, Casablanca, Maroc ; <sup>4</sup> Laboratoire d'hématologie, centre hospitalier

universitaire Ibn Rochd, Casablanca, Maroc ; <sup>5</sup> Hématologie et oncologie pédiatrique, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc ; <sup>6</sup> Hématologie et Oncologie Pédiatrique -CHU Ibn Rochd, Faculté de médecine et de pharmacie -Casablanca, Casablanca, Maroc

**Introduction.** La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est l'un des syndromes lymphoprolifératif B indolents le plus fréquent. Au Maroc, elle représente environ 30 % des leucémies chez l'adulte et 25 % des lymphomes non hodgkiniens. Son incidence augmente à > 30/100 000/an à l'âge de > 80 ans. C'est une pathologie incurable mais sa survie est augmentée suite à l'avènement de nouvelles molécules.

**Matériels et méthodes.** Étude rétrospective menée entre 2012 et 2016, avec comme critères d'inclusion : lymphocytose sanguine isolée 5 G/L et un score MATUTES (Score <sup>3</sup> 3/5). La stratification pronostique adoptée était celle de Binet associée à d'autres facteurs pronostiques (temps de dédoublement des lymphocytes,  $\pm$   $\beta$ 2-microglobuline et certaines anomalies cytogénétiques  $\pm$  FISH).

**Résultats.** L'étude a recueilli 134 patients, ce qui représente 12,7 % des LNH et 37,3 % des LNH indolents avec une médiane de recrutement annuel de 26 patients/an. L'âge médian des patients était de 68 ans [36-91] avec un sex-ratio (H/F) de 1,6. Le syndrome tumoral a été retrouvé chez 72,4 % des patients. À l'hémogramme l'anémie était retrouvée chez 28,3 % des patients et une thrombopénie chez 14,2 %. Le frottis sanguin a été réalisé chez 32,8 % des cas. Le score de MATUTES était <sup>3</sup> 4/5 chez la majorité des patients. 7,5 % des patients avaient un score égal à 3/5. Au diagnostic, 68,7 % des patients présentaient un stade clinique avancé de BINET (B et C) avec seulement 31,3 % des cas au stade A. Le caryotype et l'hybridation *in situ* par fluorescence étaient réalisés respectivement chez seulement 23,1 % et 11,9 % des patients et la del(17p) a été retrouvée chez 12,5 %. Sur le plan thérapeutique, l'abstention a été adoptée chez 42,5 % des cas et 57,5 % ont reçu la première ligne thérapeutique. La survie globale et la survie sans progression à 5 ans étaient respectivement de l'ordre de 70,5 % et de 40,8 %.

**Conclusion.** Cette étude a montré que notre population est hétérogène et que la majorité des patients consultent à des stades avancés de la maladie. L'immunophénotypage a été réalisé chez tous les patients. La réalisation de la FISH à la recherche de la del(17p) doit être rendue systématique et le protocole RFC de plus en plus doit être accessible aux patients Fit, sans del (17p).

## 04-03 Identification des facteurs prédictifs des concentrations d'ibrutinib par un modèle pharmacocinétique de population

F. Gallais<sup>1</sup>, L. Ysebaert<sup>2\*</sup>, B. Allal<sup>1</sup>, E. Chatelut<sup>3</sup>, M. White-Koning<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CRCT, Inserm UMR 1037, Toulouse ; <sup>2</sup> Hématologie clinique, IUCT Oncopole, Toulouse ; <sup>3</sup> Laboratoire de pharmacocinétique, IUCT Oncopole, Toulouse

**Introduction.** L'ibrutinib est une thérapie ciblée anti-BTK utilisée pour le traitement de la leucémie lymphoïde chronique (LLC), et d'autres lymphomes (manteau, Waldenström). Ce médicament présente une pharmacocinétique (PK) très hétérogène d'un patient à l'autre. Sa biodisponibilité par voie orale (F) est très faible du fait d'un important effet de premier passage hépatique. Un de ses métabolites, le dihydrodiol ibrutinib, présente des concentrations du même ordre que la molécule mère bien qu'il soit 15 fois moins actif que cette dernière. L'objectif de cette étude est de développer pour la première fois un modèle pharmacocinétique de population (PKPOP) décrivant à la fois les concentrations d'ibrutinib et celles de son métabolite, de quantifier et d'expliquer la variabilité interindividuelle des paramètres PK à partir de données de pratique clinique courante.

**Patients et méthodes.** L'étude a été initiée en 2016. Au total, 93 patients traités par ibrutinib ont été inclus. Une exploration pharmacocinétique a été réalisée après un mois de traitement (six prélèvements : avant la prise et 0,5-1-2-4-6 h après la prise). Les concentrations d'ibrutinib et de son métabolite ont été quantifiées par chromatographie liquide à ultra-haute performance couplée à une spectrométrie de masse. Un modèle mathématique permettant de décrire l'évolution des

concentrations des deux molécules dans le temps a été développé. L'approche dite « de population » permettant d'analyser simultanément toutes les concentrations disponibles et de quantifier la variabilité interindividuelle (IIV) des paramètres PK a été utilisée. L'impact de différentes covariables a ensuite été analysé, afin de déterminer lesquelles pouvaient être à l'origine de la variabilité PK observée. Ces covariables incluaient des facteurs liés au patient (ex : poids, sexe, âge), ou à la pathologie (ex : ligne de traitement, biologie moléculaire, cytogénétique, taux de lymphocytes B/T/NK).

**Résultats.** Les données de 88/93 patients (1 049 concentrations) sont analysables à la date de point (fin novembre 2018). Dans le modèle PK obtenu, l'absorption de l'ibrutinib est décrite par un processus séquentiel et débute après un délai de 13 min en moyenne (IIV de 99 %). L'effet de premier passage hépatique est décrit par l'absorption d'une partie de la dose directement sous forme de métabolite (1). L'ibrutinib peut ensuite être éliminé (CL<sub>libru</sub>/F = 248 L/h, IIV<sub>CLlibru</sub> = 71%) ou métabolisé en dihydrodiol-ibrutinib (K<sub>met</sub>/F = 132 L/h, IIV<sub>Kmet</sub> = 87%) qui est ensuite éliminé (CL<sub>dhd-ibru</sub>/F = 183 L/h, IIV<sub>CLdhd-ibru</sub> = 61%). L'étude des covariables a montré que la clairance de l'ibrutinib augmente de façon proportionnelle au taux de lymphocytes T CD4+ (LyT CD4+), et qu'une augmentation de poids est associée à la hausse des valeurs de volumes de distribution (ces effets sont les seuls statistiquement significatifs en analyse multivariée). La justification de l'effet des LyT CD4+ sur la clairance de l'ibrutinib reste à explorer, même si on sait que le médicament lie ITK dans ces cellules.

**Conclusion.** Marostica *et al.* avaient proposé un premier modèle PKPOP de l'ibrutinib (2). Notre étude a permis d'étendre ce modèle en prenant en compte simultanément les observations d'ibrutinib et celles du métabolite. Le modèle final permet une description satisfaisante des concentrations observées après un mois de traitement. Le taux de LyT CD4+ ainsi que le poids permettent d'expliquer une partie de la grande variabilité interindividuelle. Il reste à déterminer si l'utilisation de doses de médicament basées sur notre modèle aura un impact clinique bénéfique pour les patients, en termes de réduction du risque d'effets secondaires.

#### 04-04 Prévalence élevée des mutations de la tyrosine kinase de Bruton chez les patients atteints de leucémie lymphoïde chronique après 3 ans d'ibrutinib. Une étude de « vraie vie » du groupe FILO-ILC

A. Quinquenel<sup>\*1</sup>, LM. Fornecker<sup>2</sup>, R. Letestu<sup>3</sup>, C. Fleury<sup>3</sup>, L. Ysebaert<sup>4</sup>, MS. Dilhuydy<sup>5</sup>, R. Guizé<sup>6</sup>, P. Feugier<sup>7</sup>, D. Roos-Weil<sup>8</sup>, L. Willems<sup>9</sup>, AS. Michallet<sup>10</sup>, A. Delmer<sup>1</sup>, V. Lévy<sup>11</sup>, F. Cymbalista<sup>3</sup>, F. Baran-Marszak<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Hématologie clinique, CHU de Reims - Hôpital Robert Debré, Reims ; <sup>2</sup> Service d'hématologie, CHU de Strasbourg, Strasbourg ; <sup>3</sup> Laboratoire d'hématologie, Hôpital Avicenne, Bobigny ; <sup>4</sup> Hématologie clinique, IUCT Oncopole, Toulouse ; <sup>5</sup> Hématologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux ; <sup>6</sup> Hématologie clinique et thérapie cellulaire, CHU Estaing, Clermont-Ferrand ; <sup>7</sup> Hématologie, CHU de Nancy, Nancy ; <sup>8</sup> Hématologie, Pitié-Salpêtrière, Paris ; <sup>9</sup> Hématologie clinique, AP-HP, Hôpital Cochin, Paris ; <sup>10</sup> Hématologie, Centre Léon Bérard, Lyon ; <sup>11</sup> Centre de recherche clinique, Hôpital Avicenne, Bobigny

**Introduction.** Les données à long terme des patients atteints de LLC traités par ibrutinib en monothérapie sont principalement issues des essais cliniques, et plusieurs études ont démontré l'existence d'un lien étroit entre la survenue de mutations de BTK et PLCg2 et la progression sous ibrutinib. La prévalence de ces mutations a été analysée dans des cohortes de patients progressifs, mais très peu chez les patients en bonne réponse sous ibrutinib. En France, hors essai clinique, l'ibrutinib a été disponible pour la première fois en 2014 dans le cadre de l'ATU. L'objectif principal était donc d'évaluer par NGS le profil mutationnel des patients LLC inclus dans l'ATU toujours sous ibrutinib à 3 ans. Une analyse de la maladie résiduelle (MRD) et des sous-populations lymphocytaires T a également été réalisée.

**Résultats.** Les données de 204 patients traités dans le cadre de l'ATU dans 29 centres du groupe FILO ont été collectées. Une analyse biologique centralisée a pu être réalisée chez 57 des 63 patients toujours sous ibrutinib après 3 ans. Une del(11q) ou une del(17p) était présente chez 45 et 43 % de ces 57 patients respectivement, et 89 % avaient un statut mutationnel IGHV non muté. Les patients avaient reçu en médiane 2 lignes de traitement (0-5), dont 81 % une chimiothérapie de type FCR et/ou BR. Le délai médian entre l'initiation de l'ibrutinib et le prélèvement était de 3,5 ans (2,75-4,2 ans). La lymphocytose médiane était de 2,62 G/L (0,37-121) et la lymphocytose clonale médiane de 0,52 G/L (0-117). L'analyse de la MRD a été réalisée par cytométrie en flux, et aucun patient n'avait une maladie résiduelle inférieure à 10<sup>-4</sup> dans le sang. Concernant les LT CD4+, le taux médian était de 584/mm<sup>3</sup>, avec un taux supérieur à 250/mm<sup>3</sup> chez 90 % des patients. Afin d'éviter les faux négatifs, l'analyse du profil mutationnel par NGS n'a été réalisée que chez les 30 patients dont la lymphocytose clonale était supérieure à 0,5 G/L. Au moins une

mutation de BTK a été retrouvée chez 17/30 patients (57 %), avec une fréquence de l'allèle variant (VAF) extrêmement variable (0,2-73 %), alors qu'au moins une mutation de PLCg2 a été mise en évidence chez 4/30 patients (13 %, VAF 1-11 %). Tous les patients avec mutation de PLCg2 présentaient également des mutations de BTK et TP53. En revanche, la survenue d'une mutation de BTK n'était corrélée ni à la présence d'une mutation de TP53, ni aux autres mutations (panel des 10 mutations les plus fréquemment observées dans la LLC), ni au nombre de traitements antérieurs (p = NS).

Avec un suivi médian de 8,5 mois, seuls 4 des 27 patients avec une lymphocytose < 0,5 G/L au moment du prélèvement ont progressé. Une nouvelle recherche de mutations a été réalisée chez deux patients, et la présence d'une mutation de BTK a été retrouvée dans les deux cas. Parmi les 17 patients avec mutation de BTK au moment du prélèvement, 14 étaient soit lentement progressifs sous ibrutinib ou ont progressé dans les mois suivant le prélèvement. En revanche, seuls 2 des 13 patients ne présentant pas de mutation de TP53 ont progressé, et étaient déjà considérés comme progressifs au moment du prélèvement.

**Conclusion.** Dans cette cohorte de « vraie vie », seuls 31 % des patients étaient toujours sous ibrutinib après 3 ans, et aucun d'entre eux n'a atteint une négativation de la MRD, même après une exposition aussi prolongée. La survenue d'une mutation de BTK a été retrouvée chez 57 % des patients testés, et est fortement corrélée à la progression de la LLC.

#### 04-05 Taux élevé de réponse complète avec maladie résiduelle indétectable dans la moelle après une stratégie d'épargne de chimiothérapie guidée par la maladie résiduelle en première ligne de traitement dans la leucémie lymphoïde chronique

AS. Michallet<sup>\*1</sup>, MS. Dilhuydy<sup>2</sup>, F. Subtil<sup>3</sup>, V. Rouille<sup>4</sup>, K. Laribi<sup>5</sup>, B. Villemagne<sup>6</sup>, O. Tournilhac<sup>7</sup>, V. Leblond<sup>8</sup>, A. Delmer<sup>9</sup>, F. Cymbalista<sup>10</sup>, R. Letestu<sup>11</sup>, V. Lévy<sup>12</sup>, F. Nguyen-Khac<sup>13</sup>, S. Lepretre<sup>14</sup>, P. Feugier<sup>15</sup>, FILO

<sup>1</sup> Hématologie, Centre Léon Bérard, Lyon ; <sup>2</sup> Hématologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux ; <sup>3</sup> Service d'hématologie, CHU Lyon Sud, Lyon ; <sup>4</sup> Département d'hématologie clinique, Saint Eloi, Montpellier ; <sup>5</sup> Hématologie clinique, CH Le Mans, Le Mans ; <sup>6</sup> Ch vendee, service hématologie, La Roche-sur-Yon ; <sup>7</sup> Hématologie clinique et thérapie cellulaire/EA Creat 7283, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France, Clermont-Ferrand ; <sup>8</sup> Hématologie clinique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ; <sup>9</sup> Hématologie, CHU De Reims, Reims ; <sup>10</sup> Hématologie biologique, Hôpital Avicenne, Bobigny ; <sup>11</sup> Laboratoire d'hématologie, Hôpital Avicenne, Bobigny ; <sup>12</sup> Hématologie, Hôpital Avicenne, Bobigny ; <sup>13</sup> Service d'hématologie biologique, AP-HP La Pitié-Salpêtrière, Paris ; <sup>14</sup> Hématologie clinique, Centre Henri Becquerel, Rouen ; <sup>15</sup> Hématologie, CHU de Nancy, Nancy

**Introduction.** Nous avons mené au sein du FILO un essai de phase II (essai ICL07) multicentrique visant à explorer l'efficacité d'un traitement d'induction « chemo-free » associant l'obinutuzumab (GA) et l'ibrutinib (I), suivi d'une immunochimiothérapie en cas de réponse partielle (RP) et/ou de MRD moelle > 0,01 %. Nous présentons ici les résultats finaux de cette étude.

**Patients et méthodes.** Cet essai s'adressait à des patients (pts) « fit » (score CIRS < 7 et ECOG < 2) atteints de LLC non précédemment traitée, sans altération de TP53, de stade A/B progressif ou C. Le traitement d'induction consistait en 6 cycles de GA associé à l'ibrutinib 420 mg/jour pendant 9 mois. Les 10 pts (7,7 %) en RC MRD < 0,01 % (sang et moelle) au mois 9 (M9) ont poursuivi l'ibrutinib seul pendant 6 mois. Tous les autres patients ont reçu 4 cycles de chimiothérapie FC + GA en poursuivant l'ibrutinib. Le critère de jugement principal était le taux de RC (critères IWCLL 2008) avec MRD < 0,01 % dans la moelle à M16, avec l'hypothèse d'atteindre cet objectif dans au moins 30 % des cas.

**Résultats.** Entre novembre 2015 et mai 2017, 135 pts ont été inclus : âge médian 62 ans (35-80 ans) | stade A 7 %, stade B 67 % et stade C 26 % | statut IGHV non muté 56 % | del(11q) 26 %, del(13q) 56 % et trisomie 12 19 % (FISH) | caryotype complexe (≥ 5 anomalies) 15 %. A M9, 92 % des pts avaient reçu l'intégralité du GA et la dose d'ibrutinib avait été réduite chez 4 pts (4 %) avant arrêt définitif chez 3 d'entre eux en raison d'effets indésirables (EI) : FA, flutter et neutropénie. Une toxicité de grade (G) 3 est survenue chez 59 % au cours des 9 premiers mois. La réponse à M9 a pu être évaluée chez 130 patients : réponse globale 100 % dont RC 42 % mais MRD < 0,01 % seulement 12 %. Aussi, conformément à la stratégie prévue, 88 % des patients ont reçu 4 cycles de FC GA+I. A M16, 123 pts (113 bras FCGA + I, 10 bras I) étaient évaluable pour la réponse. Dans le bras FCGA + I, 91 % des patients ont reçu les 4 cycles de FCGA prévus mais l'ibrutinib a été arrêté définitivement chez 19 patients (pas d'interruption dans le bras I seul). La dose d'ibrutinib a été modifiée dans 20 % des cas pour une toxicité hématologique G4 et 38 % des patients ont présenté au moins une toxicité G3 : neutropénie 24 %, thrombopénie 15 %, anémie 1,5 %, neutropénie fébrile 3 %,

troubles gastro-intestinaux 9,5 % et événements cardiaques 2,4 %. Au total, 49 EI graves ont été observés. En ITT, le taux de RC était de 72 % (79 % pour les patients évaluable) et 79 % des patients avaient une MRD < 0,01 % dans la moelle (95 % des patients évaluable). L'objectif principal de l'étude a été largement atteint avec 62 % des patients ayant obtenu à M16 une RC avec une MRD < 0,01 % en ITT (74 % des patients évaluable). Les taux de réponse et de MRD < 0,01 % étaient similaires chez les patients IGHV mutés et non mutés.

**Conclusion.** En conclusion, la stratégie adoptée a permis d'obtenir un taux de RC avec MRD < 0,01 % jamais atteint jusqu'à présent en première ligne dans la LLC, qu'il s'agisse d'un traitement standard (FCR) ou d'un tout autre traitement ciblé utilisé à ce jour jusqu'à progression.

#### 04-06 Étude multicentrique rétrospective évaluant l'utilisation de l'idélalisib chez des patients atteints de leucémie lymphoïde chronique ou de lymphome non hodgkinien indolent dans le cadre de l'autorisation temporaire d'utilisation de cohorte

Y. Loic<sup>1</sup>, F. Pierre<sup>2</sup>, G. Salles<sup>3</sup>, E. Durot<sup>4</sup>, A. Talbot<sup>5</sup>, S. Choquet<sup>6</sup>, GK. Denise<sup>7</sup>, S. Alastair<sup>8</sup>, R. Heribert<sup>9</sup>, T. Abdelhadi<sup>10</sup>, C. Haïoun<sup>10</sup>, T. Xavier<sup>11</sup>

<sup>1</sup> Hématologie clinique, IUCT Oncopole, Toulouse ; <sup>2</sup> Hématologie clinique, CHU de Nancy - Hôpitaux de Brabois, Vandœuvre-lès-Nancy ; <sup>3</sup> Hématologie clinique, CH Lyon Sud, Pierre-Bénite ; <sup>4</sup> Hématologie, Hôpital Robert Debré, Reims ; <sup>5</sup> Immunohématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris ; <sup>6</sup> Hématologie clinique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ; <sup>7</sup> Clinical research, Gilead Sciences, Boulogne-Billancourt ; <sup>8</sup> Clinical research, Gilead Sciences, Stockley Parc, Royaume Uni ; <sup>9</sup> Affaires médicales, Gilead Sciences, Boulogne-Billancourt ; <sup>10</sup> Unité hémopathies Lymphoïdes, Hôpital Henri Mondor, Créteil ; <sup>11</sup> Service d'hématologie, CHU - Hôpital Côte de Nacre, Caen

**Introduction.** L'idélalisib (IDELA), inhibiteur de PI3K-delta, est indiqué dans le traitement (tt) de la LLC et du lymphome folliculaire (LF) réfractaire de l'adulte. Son efficacité clinique et son profil de tolérance ont été établis dans le cadre des essais cliniques, cependant, il existe peu de données sur son utilisation en vie réelle. Cette étude a été mise en place pour décrire les patients (pts) traités par IDELA dans le cadre de l'ATUC.

**Patients et méthodes.** Les objectifs de cette étude multicentrique rétrospective étaient de décrire l'efficacité, les effets indésirables (EI), les EI graves (EIG), les EI d'intérêt particulier (EIP : diarrhée/colite, pneumopathie, élévation des enzymes hépatiques, neutropénie, infection et éruption) et l'utilisation d'IDELA, chez des pts adultes inclus dans l'ATUC entre juin et octobre 2014 pour une LLC ou un LNH réfractaire et ayant initié le tt par IDELA. Les médecins ayant inclus au moins un pt dans l'ATUC ont été contactés pour participer à cette étude. Les données de suivi de chaque pt sur 12 mois (m) ont été collectées et monitorées par le LYSARC (The Lymphoma Academic Research Organisation). Le critère principal d'évaluation était le taux de réponse global (TRG) à 6 m et l'analyse statistique était descriptive.

**Résultats.** Soixante-quinze pts ont été inclus : 41 dans le groupe LLC (39 en troisième ligne ou plus et 2 en première ligne avec del(17p)/m(TP53) et non éligibles à la chimiothérapie) et 34 dans le groupe LNH (18 LF, 2 lymphomes lymphocytiques, 5 lymphomes de la zone marginale et 9 macroglobulinémies de Waldenström), tous réfractaires après deux lignes de tt. 51,6 % des pts du groupe LLC étaient porteurs d'anomalie del(17p)/m(TP53). Dans les groupes LLC/LNHi respectivement : l'âge médian était de 71,5/68,5 ans, 66,7 %/69,2 % des pts avaient un ECOG 0-1, la durée médiane de tt par IDELA était de 25,1/18,9 semaines, le TRG de 82,8 %/56,5 % à 6 m (29 pts/23 pts évaluable) et de 100 %/57,1 % à 12 m (12 pts/14 pts évaluable), la survie sans progression médiane non atteinte (NA)/6,7 m, le délai médian entre la date de la dernière prise d'IDELA et le début du tt suivant après progression de la maladie (PM) NA/11,6 m et la survie globale médiane NA dans les deux groupes. Sur le plan de la tolérance, dans les groupes LLC/LNHi respectivement : 85,4 %/76,5 % des pts ont eu au moins un EI dont les plus fréquemment rapportés étaient : infections et infestations (61,0 %/50,0 %, pneumonie à *Pneumocystis jirovecii* 2,4 %/5,9 %), troubles gastro-intestinaux (56,1 %/35,3 %, diarrhée 41,5 %/29,4 %), troubles du système sanguin et lymphatique (41,5 %/41,2 %, neutropénie 17,1 %/23,5 %) et investigation (43,9 %/47,1 %, élévation des enzymes hépatiques 19,5 %/14,7 %), 24 pts/15 pts ont arrêté IDELA temporairement, 6 pts/8 pts l'ont arrêté définitivement pour EI, 38 pts/25 pts ont eu au moins un EIP, 10 pts/11 pts ont eu un EIP grave, 3 pts/6 pts ont arrêté définitivement IDELA pour EIP et 13/11 décès ont été rapportés dans cette étude (PM : 46,2 %/72,7 %).

**Conclusion.** Les résultats de cette étude, conduite chez des pts atteints de LLC et de LNHi lourdement prétraités, indiquent qu'IDELA est un tt efficace en pratique clinique et présente un profil de tolérance acceptable. Le TRG à 6 mois était respectivement de 83 %/57 % dans la LLC/LNHi reflétant ceux des essais cliniques. Les EI rapportés correspondent à ceux signalés dans les études cliniques et pourrait être amélioré par une gestion spécifique des EIP.

#### 04-07 Impact des altérations de la voie ATM dans la leucémie lymphoïde chronique à l'ère du séquençage de nouvelle génération en pratique clinique quotidienne

M. Ganard<sup>\*1</sup>, R. Houat<sup>1</sup>, C. Henry<sup>2</sup>, S. De Guibert<sup>1</sup>, I. Grulois<sup>3</sup>, O. Luycx<sup>4</sup>, J. Norwood<sup>4</sup>, D. Jacomy<sup>5</sup>, V. Launay<sup>6</sup>, P. Godmer<sup>7</sup>, B. Bareau<sup>8</sup>, T. Fest<sup>9</sup>, T. Lamy<sup>1</sup>, C. Pastoret<sup>9</sup>

<sup>1</sup> Hématologie clinique adulte, CHU de Rennes, Rennes ; <sup>2</sup> Laboratoire de cytogénétique et biologie cellulaire, CHU de Rennes, Rennes ; <sup>3</sup> Oncohématologie, CH de Saint Malo, Saint-Malo ; <sup>4</sup> Hématologie, CH de Bretagne Sud, Lorient ; <sup>5</sup> Hématologie, CH de Laval, Laval ; <sup>6</sup> Hématologie, CH Yves le Foll, Saint-Brieuc ; <sup>7</sup> Service d'hématologie clinique, CH Bretagne Atlantique, Vannes ; <sup>8</sup> Service d'hématologie et médecine interne, Hôpital privé Sévigné, Cesson-Sévigné ; <sup>9</sup> Laboratoire d'hématologie, CHU de Rennes, Rennes

**Introduction.** La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la plus fréquente des leucémies de l'adulte en Occident et est caractérisée par une évolution extrêmement hétérogène. Parmi les marqueurs prédictifs reconnus, la del(11q)(22-23), toujours responsable d'une del(ATM), représente la plus fréquente des anomalies cytogénétiques de mauvais pronostic. L'impact des mutations ponctuelles du gène ATM, isolées ou associées à la présence d'une del(11q), est en revanche moins consensuel. Nous avons mené une étude rétrospective, descriptive, sur une cohorte de patients traités selon les recommandations actuelles et ayant bénéficié d'un panel NGS (*next generation sequencing*) incluant la recherche de mutations des gènes TP53, NOTCH1, SF3B1, BIRC3, XPO1, MYD88 et ATM en pratique clinique quotidienne. L'objectif de ce travail est d'évaluer la fréquence mutationnelle, l'association aux autres facteurs pronostiques et l'impact clinique des altérations de la voie ATM.

**Résultats.** Deux cent soixante-huit patients atteints de LLC/lymphome lymphocytaire avec statut mutationnel connu du gène ATM, ont été étudiés de manière rétrospective sur la période du 1<sup>er</sup> janvier 2013 au 31 mai 2017. Le NGS a mis en évidence 50 mutations différentes d'ATM chez 42 patients (15,7 % de la cohorte). Au total 64 patients (23,9 %) possédaient une altération de la voie ATM dont seulement 13 possédaient une altération biallélique (mutation ATM et del(11q)), 22 une del(11q) isolée et 29 une mutation d'ATM isolée. La présence concomitante d'une altération des voies TP53 et ATM était une situation rare (4,1 %). La majorité des patients avec altération de la voie ATM (81,1 %) avait reçu immédiatement après l'analyse NGS un traitement de type immuno-chimiothérapie incluant un anticorps anti-CD20. La présence d'une altération de la voie ATM n'impactait pas négativement la survie globale (OS). Pour les patients ayant bénéficié du NGS avant leur première ligne, celle-ci affectait significativement le temps jusqu'au premier traitement en analyse univariée avec une médiane de 2,4 ans pour les patients avec altération de la voie ATM (IC95% 17-61 mois) versus 6,1 ans (IC95% 60-112 mois) en absence de l'altération (p = 0,004). Cet impact restait significatif en analyse multivariée (HR 1,6 IC95% 1-2,6, p = 0,023). De plus, le temps médian jusqu'à nécessité d'une nouvelle ligne thérapeutique (TTNT) pour le sous-groupe de patients avec altération d'ATM était de 2 ans (IC95% 15-24 mois) versus non atteint en absence de l'altération (p = 0,003), y compris en cas de traitement par inhibiteurs de la voie du BCR. Le devenir du sous-groupe de patients avec altération biallélique d'ATM était particulièrement péjoratif avec un TTNT médian de 5,5 mois (IC95% 4,8-6,2 mois). En analyse multivariée, seule la présence d'une mutation d'ATM possédait un impact significatif sur le TTNT (HR 3,98 IC95% 1,45-10,9, p = 0,008).

**Conclusion.** Les altérations de la voie ATM sont les plus fréquentes des anomalies de mauvais pronostic retrouvées dans notre cohorte. Elles confèrent un profil évolutif défavorable avec nécessité d'une intervention thérapeutique précoce et se caractérisent par la survenue de rechutes rapides, notamment en cas d'altération biallélique ou de profil multiple-hit. Ces résultats soulignent l'importance d'intégrer le gène ATM à un panel NGS ciblé en pratique clinique quotidienne pour mieux caractériser les patients atteints de LLC.

#### 04-08 FlowSOM, nouvel outil d'analyse multidimensionnelle en cytométrie en flux : application à l'immunophénotypage de la leucémie lymphoïde chronique

F. Durrieu<sup>\*1</sup>, K. Mohabeer<sup>1</sup>, B. Dupont<sup>2</sup>, MC. Béné<sup>3</sup>, F. Lacombe<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de biologie médicale, Institut Bergonié, Bordeaux ; <sup>2</sup> Spécialiste applications, Beckman Coulter, Villepinte ; <sup>3</sup> Service d'hématologie biologique, Hôtel-Dieu, Nantes ; <sup>4</sup> Hématologie biologique, CHU Haut-Lévêque, Bordeaux

**Introduction.** La CMF est indispensable au diagnostic et au suivi de la LLC. Cependant, les stratégies d'analyse classiques permettant d'isoler la population d'intérêt n'obéissent à aucun consensus et sont opérateur-dépendantes avec possible mise à l'écart de populations rares ou atypiques pouvant avoir un intérêt diagnostique ou pronostic. De

nouveaux logiciels capables de réaliser une analyse non supervisée préalable à la validation supervisée de l'opérateur ont récemment émergé pour l'analyse ultra-multidimensionnelle des données de cytométrie de masse. Parmi eux, le logiciel FlowSOM (Flow Self Organizing Maps) est très rapide et capable de fournir des images figées permettant une comparaison exacte d'échantillons pathologiques par rapport à une image de référence ou entre eux. Nous avons testé FlowSOM et sa possibilité de le coupler à des outils d'analyse classiques dans le cadre de la LLC, afin d'apprécier l'intérêt de ce logiciel dans une activité de CMF de routine.

**Matériels et méthodes.** Les immunophénotypages ont été réalisés sur sang total et analysés sur un Navios (Beckman Coulter). 3 tubes ont été réalisés pour chaque échantillon : T1) CD8-FITC/CD23-PE/CD4-ECD/CD14-PC5,5/CD5-PC7/CD79b-APC/CD56-AA700/CD19-AA750/CD3-PB/CD45-KO T2) Kappa-FITC/Lambda-PE/CD20-ECD/CD5-PC5,5/CD3-APC/CD19-AA750/FMC7-PB/CD45-KO T3) CD81-FITC/CD43-PE/CD38-ECD/CD5-PC5,5/CD200-PC7/CD79b-APC/CD22-AA700/CD19-AA750/CD3-PB/CD45-KO.

**Résultats.** Les listmodes de 14 sangs témoins ont été analysés à l'aide de Kaluza<sup>®</sup> (Beckman Coulter) en supprimant toutes les fenêtres, et en représentant tous les histogrammes biparamétriques possibles sur une échelle logarithmique biexponentielle. Les listmodes ont été fusionnés et le *merge* de chaque tube a été analysé par FlowSOM. L'analyse non supervisée a permis d'obtenir 24 images de référence par tube. Chaque image est constituée de 100 nœuds (ensemble de cellules ayant une expression similaire pour l'ensemble des marqueurs) dans une représentation arborescente (Minimal Spanning Tree, MST). Le choix final d'une image de référence (« Frozen FS ») est décidé par l'opérateur en fonction de la discrimination des populations normales.

Les listmodes de patients LLC (diagnostic et suivi) ont été analysés par FlowSOM en imposant la cartographie du fichier de référence. Cette première analyse regroupe bien les lymphocytes B des patients à l'endroit prévu.

Une deuxième image (dite « Free FS ») a été ensuite générée sans cartographie imposée. Elle isole des nœuds différents dont certains ne sont pas présents dans la population de référence. Ceci permet une caractérisation plus approfondie de la population pathologique, et le suivi de la maladie résiduelle sur le tube 1 généraliste avec une sensibilité au moins équivalente à celle obtenue par une analyse classique.

**Conclusion.** L'analyse non supervisée de listmodes complexes permet de s'affranchir de la subjectivité de l'opérateur et du temps nécessaire à évaluer l'expression de tous les paramètres. Notre protocole implique 2 analyses par FlowSOM. Une première, avec la cartographie de l'image de référence imposée aux échantillons, permet la visualisation et la quantification des principales populations leucocytaires. La seconde permet de mieux distinguer et de suivre les populations pathologiques, même rares. Nos premiers résultats sur la LLC vont permettre de tester cette méthode en routine et de l'étendre aux autres hémopathies B matures.

#### 04-09 La mutation IKZF3<sup>L162R</sup> (AIOLOS) affecte le développement lymphoïde B et l'expression de gènes impliqués dans la lymphomagenèse

G. Lazarian<sup>\*1</sup>, S. Yin<sup>2</sup>, A. Font-Tello<sup>3</sup>, T. Sevastianik<sup>4</sup>, E. Ten Hacken<sup>1</sup>, FF. Regis<sup>1</sup>, A. Gill<sup>1</sup>, M. Zheng<sup>4</sup>, K. Georgopoulos<sup>5</sup>, N. Donna<sup>6</sup>, W. Lili<sup>7</sup>, R. Carrasco<sup>4</sup>, C. Wu<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medical oncology, Dana Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis ;

<sup>2</sup> Department of cell biology, Harvard Medical School, Boston, États-Unis ;

<sup>3</sup> Cfce, Dana Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis ; <sup>4</sup> Department of oncologic pathology, Dana Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis ;

<sup>5</sup> Cutaneous biology research center, Massachusetts General Hospital, Boston, États-Unis ; <sup>6</sup> Department of biostatistics and computational biology, Dana Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis ; <sup>7</sup> Department of systems biology, City of hope, Duarte, États-Unis

**Introduction.** Récemment, les études de séquençage de l'exome de patients atteints de leucémie lymphoïde chronique ont identifié une mutation récurrente hot-spot dans le gène *IKZF3* avec une fréquence d'environ 2 %. *IKZF3* code le facteur de transcription et le remodelleur de la chromatine AIOLOS et joue un rôle dans le développement lymphoïde B. La mutation L162R, rapportée aussi dans quelques cas de lymphome à cellules du manteau et lymphome B diffus à grandes cellules, est localisée dans le domaine de liaison à l'ADN. Son impact fonctionnel n'a jamais été étudié.

**Matériels et méthodes.** Nous avons généré un modèle murin exprimant la mutation de façon restreinte dans la lignée B, en croisant des souris *Ikzf3-L162R* floxé avec des souris *Cd19-Cre*. Des souris *IKZF3* homozygotes et hétérozygotes ont été générées. L'impact de la mutation sur la différenciation lymphoïde B a été analysé par cytométrie en flux et immunohistochimie (9 souris/groupe). Les gènes cibles d'AIOLOS ont été identifiés par une analyse combinée du transcriptome par RNA-seq et ChIP-

seq dans les cellules B spléniques de souris âgées de 3 mois (*wild-type* = 5, mutant-hétérozygote = 5, mutant-homozygote = 3) Des études fonctionnelles *in vitro* ont permis d'analyser la signalisation du récepteur B (BCR) et la migration cellulaire des lymphocytes B spléniques.

**Résultats.** L'étude du développement lymphoïde B splénique par cytométrie en flux a montré une diminution de la proportion moyenne des cellules de la zone marginale chez les souris mutantes hétérozygotes et homozygotes par rapport aux souris non mutées (respectivement 4,9 % et 3,8 % vs 11,5 %,  $p = 0,005$ ) et une augmentation de la proportion moyenne des cellules folliculaires (76 % et 78 % vs 63 %,  $p = 0,005$ ). L'immunohistochimie a confirmé la réduction de la zone marginale pour les souris mutantes. L'analyse transcriptomique a mis en évidence une expression différentielle de gènes significative chez les souris homozygotes, avec 1 501 gènes sous-exprimés et 911 gènes surexprimés dont *Myc*, *Irf4*, *Cxcr4*, *Wnt16*, *Jun*, *Egr1*, *Il10*, *Tgfa*, *Nfkbid* ou *Fos*. L'analyse par ChIP-seq des régions génomiques reconnues par Aiolos a identifié 2236 sites de liaison à l'ADN pour la protéine non mutée contre 877 pour la protéine mutante avec plus de la moitié de sites communs. Les gènes cibles identifiés pour chacune appartiennent à des voies biologiques similaires incluant la signalisation du BCR et la signalisation liée au *Cxcr4*. Les résultats combinés du RNA-seq et du ChIP-seq ont permis d'identifier les gènes cibles d'Aiolos dont l'expression est dérégulée en présence de la mutation. Parmi les 2412 gènes exprimés de façon différentielle, 106 sont des gènes cibles directs d'Aiolos et incluent notamment des gènes importants dans la lymphomagenèse tels que *Myc*, *Irf4*, *Nfkbid*, *Rel*, *Klf2*, *Jun*, *Egr1* et *Cxcr4*. Les études fonctionnelles *in vitro* confirment que les cellules B mutantes présentent une activation de la voie du BCR, une meilleure réponse à la stimulation de BCR et une capacité de migration augmentée en réponse au SDF-1.

**Conclusion.** Cette étude a permis de montrer l'impact de la mutation *IKZF3-L162R* sur le développement B splénique murin. Les gènes cibles d'Aiolos et de la protéine mutée ont été identifiés. Les résultats préliminaires montrent que la mutation *IKZF3-L162R* induit l'expression de gènes impliqués dans la lymphomagenèse, la survie et la migration des cellules B matures.

#### 04-10 Résultats thérapeutiques du protocole FCR dans le traitement de la leucémie lymphoïde chronique : étude monocentrique

I. Frikha<sup>\*1</sup>, M. Medhaffer<sup>1</sup>, I. Turki<sup>1</sup>, I. Ben Amor<sup>1</sup>, M. Charfi<sup>1</sup>, N. Louati<sup>2</sup>, H. Sennena<sup>3</sup>, M. Chaari<sup>4</sup>, H. Bellaaj<sup>1</sup>, O. Kassari<sup>1</sup>, F. Kallel<sup>1</sup>, M. Ghorbel<sup>1</sup>, S. Hadjiji<sup>1</sup>, M. Elloumi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hématologie clinique, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie ; <sup>2</sup> Hématologie biologique, Centre régional de transfusion sanguine, Sfax, Tunisie ;

<sup>3</sup> Laboratoire cytogénétique, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie ;

<sup>4</sup> Laboratoire hématologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

**Introduction.** La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la leucémie la plus fréquente de l'adulte surtout dans les pays occidentaux. Le pronostic de cette pathologie est amélioré ces dernières années et l'association chimio-immunothérapie constitue le traitement de référence des formes symptomatiques. Nous rapportons dans cette étude les résultats thérapeutiques du protocole fludarabine-endoxan-rituximab (FCR) à travers une série de patients du Sud tunisien.

**Patients et méthodes.** Nous avons mené une étude rétrospective des cas de LLC nouvellement diagnostiquée qui sont suivis au service d'hématologie de Sfax durant la période de 2009 à 2016. Pour chaque patient nous avons précisé les caractéristiques diagnostiques, thérapeutiques (rémission complète : RC, survie globale : SG et survie sans événement : SSE) et évolutives.

**Résultats.** Dix-neuf cas de LLC ont été traités par FCR. L'âge médian au diagnostic était de 47 ans (41 à 67 ans). Le sex-ratio était de 0,9 (9 hommes et 10 femmes). Un syndrome tumoral périphérique a été retrouvé dans 61 % des cas et une splénomégalie dans la moitié des cas. Des signes d'agressivité de la maladie dans 42 % des cas. Le taux médian des GB était de 36 000/mm<sup>3</sup> (7500/mm<sup>3</sup> à 362 000/mm<sup>3</sup>) avec un taux médian de lymphocytes sanguins de 27 000/mm<sup>3</sup> (2500/mm<sup>3</sup> à 129 000/mm<sup>3</sup>). Un taux d'Hb < 10 g/dL retrouvé dans 6 cas et un taux de plaquettes < 100 000/mm<sup>3</sup> dans 6 cas aussi. Un caryotype médullaire par méthode Fish réalisé dans 6 cas a révélé l'absence d'anomalies cytogénétiques dans 3 cas et la présence de la trisomie 12, de la del(11q) et de la del(17p) dans un cas chacune. Nos cas étaient classés stade A de Binet pour 1 cas, stade B pour 7 cas et stade C dans 11 cas. Le taux de réponse globale était de 94 % des cas dont 81 % de RC. Un échec thérapeutique a été constaté dans 19 % des cas. Un taux de rechutes a été noté dans 33 % des cas avec un délai médian de survenue de la rechute de 9 mois (8-48 mois). Une transformation en syndrome de Richter a été constatée dans 3 cas. Après un recul moyen de 55 mois, la SG et la SSE à 5 ans étaient respectivement de 81 % et de 61 %.

**Conclusion.** Le traitement de la LLC par chimio-immunothérapie type FCR constitue le *gold standard* pour les patients *fit*. Ce schéma thérapeutique a

permis dans notre série une réponse globale dans 94 % des cas dont 81 % de RC, résultats très comparables à ceux de la littérature. Ces résultats sont aussi satisfaisants en termes de SG et de survie sans maladie aussi bien dans notre série que dans la littérature avec 81 % vs 90 % et 61 % vs 65 %.

#### 04-11 La charge mutationnelle par reséquençage haut débit ciblé prédit la survie sans traitement dans la leucémie lymphoïde chronique

J. Chauzeix<sup>\*1</sup>, L. Donaty<sup>2</sup>, N. Gachard<sup>3</sup>, J. Feuillard<sup>3</sup>, D. Rizzo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hématologie biologique, CHU de Limoges Dupuytren, Limoges ;

<sup>2</sup> UMR7276, Faculté de médecine de Limoges, Limoges ; <sup>3</sup> Hématologie biologique, CHU Limoges, Limoges

**Introduction.** La charge mutationnelle est définie comme la fréquence de mutations non synonymes dans le génome de la tumeur. Initialement issue de données de séquençage du génome entier ou d'exomes, plusieurs équipes ont montré qu'elle peut être calculée à partir de panels ciblés avec la même informativité. Essentiellement utilisée dans les cancers solides comme biomarqueur prédisant la réponse aux thérapies immunomodulatrices, la charge mutationnelle n'a été quasi jamais étudiée comme biomarqueur pronostique per se.

Dans ce travail, nous avons étudié l'impact pronostique de la charge mutationnelle dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC). En effet, la LLC est une pathologie d'évolution très hétérogène au plan clinique. Les classifications clinico-biologiques de Rai et Binet restent la référence, et, au plan moléculaire, seuls le statut mutationnel IGHV ou certaines anomalies cytogénétiques récurrentes (del(17p), del(11q), trisomie 12 ou del(13q) isolée) font consensus pour leur intérêt pronostique.

**Matériels et méthodes.** Nous avons calculé la charge mutationnelle à partir d'un panel Ampliseq couvrant 221,6 kb et ciblant 70 gènes mutés de façon récurrente dans la LLC et les lymphomes B. Les échantillons de 80 patients ont été analysés.

**Résultats.** La charge mutationnelle médiane de la série était de 2/221,6 kb. Parmi les patients non traités, 20 avaient une charge mutationnelle supérieure ou égale à 2 mutations (soit 43 %), contre 25 (soit 75 %) parmi ceux ayant déjà reçu un traitement (test du Chi-carré,  $p = 0,003$ ). Également, 13/33 (39 %) des patients avec IGHV muté avaient une charge mutationnelle supérieure ou égale à 2 contre 30/43 (70 %) pour les patients avec IGHV non muté. La survie sans traitement (TFS) était significativement diminuée en cas de charge mutationnelle supérieure ou égale à 2 (TFS médiane = 1,1 an vs 3,8 ans, logrank test,  $p = 0,004$ ). Ceci était notamment valable parmi les patients de stade Binet A (TFS médiane = 1,4 an vs 8,2 ans, log-rank test,  $p = 0,003$ ) et pour les patients avec IGHV muté (TFS médiane = 1,2 an vs 32,8 ans, log-rank test,  $p = 0,04$ ). En analyse de Cox univariée, la charge mutationnelle était un marqueur pronostique hautement significatif ( $p = 0,0061$ ). En analyse multivariée, la charge mutationnelle et le stade Binet apparaissaient comme seules variables pronostiques indépendantes contre le statut IGHV, le statut mutationnel SF3B1, le statut muté ou délété d'ATM, la del(13q) isolée et la trisomie 12.

**Conclusion.** Au total, la charge mutationnelle apparaît faible dans la LLC, comme attendu d'après la littérature. Elle est cependant très hétérogène d'un sujet à l'autre. Son augmentation est en effet retrouvée principalement chez les patients traités et, en cohérence, est associée à une survie sans traitement diminuée dans la LLC. Fait marquant, la charge mutationnelle apparaît comme une variable pronostique indépendante du stade Binet, du statut mutationnel IGHV et des données cytogénétiques et moléculaires « classiques » incluses dans le score de Rossi.

#### 04-12 Le séquençage haut débit peut-il remplacer la cytogénétique dans la leucémie lymphoïde chronique ? Mise au point et évaluation d'une méthode de recherche d'altération du nombre de copies de gènes

J. Chauzeix<sup>\*1</sup>, L. Donaty<sup>2</sup>, P. Derouault<sup>3</sup>, AS. Lia<sup>3</sup>, N. Gachard<sup>4</sup>, J. Feuillard<sup>4</sup>, D. Rizzo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hématologie biologique, CHU de Limoges Dupuytren, Limoges ;

<sup>2</sup> UMR7276, Faculté de médecine de Limoges, Limoges ; <sup>3</sup> Ea6308, Faculté de médecine de Limoges, Limoges ; <sup>4</sup> Hématologie biologique, CHU Limoges, Limoges

**Introduction.** La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est une pathologie d'évolution très hétérogène au plan clinique. En conséquence, de nombreux marqueurs pronostiques ont été proposés. Parmi ceux-ci, les classifications clinico-biologiques de Rai ou Binet, le statut mutationnel IGHV et certaines anomalies cytogénétiques récurrentes font référence. Ainsi, il est actuellement recommandé de rechercher les altérations de TP53 avant chaque traitement (résistance à la fludarabine). Ceci implique à la fois la recherche de délétion par cytogénétique (caryotype + FISH) et de mutation par séquençage, préférentiellement par séquençage haut

débit (next generation sequencing [NGS]). Afin de limiter le nombre d'exams, nous avons développé 2 outils permettant la recherche d'altérations de nombre de copies de gènes (copy number aberration [CNA]) à partir des données NGS avec panels d'amplicons.

**Matériels et méthodes.** Nous avons étudié 82 patients avec annotation cytogénétique complète. Nous avons mis au point un panel NGS de type Ampliseq ciblant 70 gènes d'intérêt dans la LLC ou autres lymphomes B. Les déséquilibres géniques ont été analysés avec le logiciel Cov'Cop2 qui a été spécifiquement adapté à la génétique somatique. Les nombres de lectures obtenus par amplicons sont automatiquement normalisés au sein d'un même run de séquençage avec la possibilité d'utiliser des échantillons de référence (i.e. sans gain ni perte). Nous obtenons une représentation graphique des ratios normalisés permettant de détecter rapidement des délétions (ratio < 1) ou duplications (ratio > 1). En parallèle, nous avons mis au point un script R permettant d'utiliser les polymorphismes (single nucleotide polymorphism [SNP]) pour la recherche de CNA. En effet un SNP hétérozygote est supposé avoir une fréquence allélique du variant (ou VAF) proche de 50 %. Toute VAF s'écartant de 50 % peut indiquer un déséquilibre génique. L'algorithme sélectionne les SNP informatifs et calcule la moyenne de leur VAF et par amplicon. Nous avons optimisé les bornes de normalité à  $\pm 2,5$  écarts-types par rapport à la moyenne. Enfin, un graphique par échantillon est généré.

**Résultats.** Nous avons comparé les résultats obtenus par NGS à la cytogénétique considérée comme la technique de référence. Avec notre panel, nous obtenons une concordance parfaite pour la trisomie 12 alors qu'il persiste un manque de sensibilité pour la del(13q), la del(11q) et la del(17p). Le seuil de sensibilité de la technique est estimé à 30 % de cellules porteuses de l'anomalie. L'utilisation des SNP permet d'identifier des cas de disomies uniparentales (perte d'hétérozygotie sans altération du nombre de copies) qui demeurent invisibles par cytogénétique conventionnelle, notamment pour TP53.

**Conclusion.** En conclusion, cette approche est intéressante pour le criblage des patients avant réalisation de la FISH mais ne permet pas de la remplacer du fait du manque de sensibilité, en particulier pour la recherche de la del(17p). Mais, complémentirement, elle permet de détecter des disomies uniparentales, invisibles en cytogénétique conventionnelle.

#### 04-13 Démarche thérapeutique dans la leucémie lymphoïde chronique : quel apport de la recherche des mutations de différents gènes de la voie de p53 par séquençage de nouvelle génération ?

G. Tueur<sup>\*1</sup>, V. Eclache<sup>1</sup>, G. Lazarian<sup>1</sup>, C. Fleury<sup>1</sup>, R. Letestu<sup>1</sup>, V. Lévy<sup>2</sup>, J.F. Collon<sup>1</sup>, J.M. Zini<sup>3</sup>, C. Thieblemont<sup>3</sup>, F. Cymbalista<sup>1</sup>, F. Baran-Marszak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire d'hématologie, Hôpital Avicenne AP-HP, Bobigny ; <sup>2</sup> Unité de recherche clinique, Hôpital Avicenne AP-HP, Bobigny ; <sup>3</sup> Hématologie, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris

**Introduction.** Au cours des dernières années, la mise en évidence de mutations récurrentes de gènes impactant le pronostic, et le développement de thérapies ciblées ont révolutionné la prise en charge des patients atteints de LLC. Par ailleurs, l'importance de la voie de p53 dans la LLC a été confirmée par la mise en évidence de mutations de gènes codant pour plusieurs protéines partenaires de p53. Ces mutations touchent en effet des gènes codant pour des protéines impliquées dans l'activation de p53 (ATM, POT1), le contrôle de son inhibition (RPS15, BIRC3) mais aussi de son export (XPO1)[1,2]. Ces mutations aboutissent vraisemblablement à une altération de l'activité de p53. Néanmoins, à l'heure actuelle, seul le statut muté/délété du gène TP53 a un impact thérapeutique.

**Patients et méthodes.** Nous avons analysé différents marqueurs moléculaires (statut mutationnel des IGHV, caryotype, analyse en FISH de la trisomie 12, les del(17p), del(11q) et del(13q), mutations de TP53, NOTCH1, SF3B1, BIRC3, ATM, XPO1, POT1, EGR2, MYD88, RPS15, FBXW7 et NFKBIE) sur une cohorte de 223 patients atteints de LLC de risque élevé (69 % des patients de statut IGHV non muté). Nos objectifs étaient d'étudier la répartition de ces différents marqueurs, et en particulier de ceux interagissant avec la voie de p53. Nous avons aussi souhaité déterminer l'apport de la recherche de ces mutations par rapport à la démarche thérapeutique habituelle (FISH et recherche de mutations de TP53).

**Résultats.** De façon attendue, les mutations mises en évidence par les techniques de NGS étaient plus fréquentes dans le groupe de patients IGHV non muté (127/150 (85 %) dans le groupe IGHV non muté vs 32/68 (47 %) dans le groupe IGHV muté).

Parmi les 150 patients de statut IGHV non muté, 45 (42 %) présentent une del(11q) ou une del(17p) identifiée par FISH. La recherche de mutation du gène TP53 permet l'identification de 42 patients soit 19 (18 %) patients supplémentaires. Ainsi, l'analyse en cytogénétique et la recherche de mutation de TP53 sont restées négatives pour 86/150 (57 %) patients de statut IGHV non muté. La réalisation du panel NGS recherchant les

mutations des autres gènes de la voie de p53 permet l'identification de 42 patients supplémentaires (soit 49 % des patients non identifiés par la FISH et les mutations de *TP53*). Au total, 106/150 (71 %) patients de statut *IGHV* non muté présentent une anomalie de la voie de p53 (del(11q), del(17p) ou mutation d'au moins 5 anomalies (CK5), sont retrouvés chez 14/150 patients de statut *IGHV* non muté et seuls 3 patients avec un CK5 ne présentent ni del(11q), ni del(17p), ni de mutations de la voie de p53.

Par ailleurs, de façon intéressante, les mutations de 3 gènes de la voie de p53 (*TP53*, *ATM* et *XPO1*) apparaissent mutuellement exclusives dans l'ensemble de notre cohorte. L'analyse de 771 patients rapportés dans la littérature confirme cette observation (1 seul patient sur les 771 analysés présente une mutation d'*ATM* et *XPO1*).

**Conclusion.** Des travaux sont actuellement en cours afin de déterminer l'impact exact de ces mutations sur la fonctionnalité de la voie p53. Le caractère exclusif de ces mutations et leur fréquence élevée chez les patients *IGHV* non mutés justifient d'explorer leur rôle dans l'évolution des patients sous traitement afin de déterminer au plus vite si elles doivent être recherchées par NGS ciblé avant tout traitement de la LLC, au même titre que la mutation de *TP53*.

#### 04-14 Reprogrammation mitochondriale à l'origine de la résistance au vénétoclax dans les hémopathies lymphoïdes

R. Guizèze<sup>\*1</sup>, V. Liu<sup>2</sup>, D. Rosebrock<sup>3</sup>, A. Jourdain<sup>4</sup>, M. Hernandez-Sanchez<sup>5</sup>, A. Martinez<sup>6</sup>, J. Sun<sup>2</sup>, K. Baranowski<sup>2</sup>, P. Thompson<sup>7</sup>, J.M. Heo<sup>8</sup>, Z. Cartun<sup>2</sup>, G. Notarangelo<sup>2</sup>, S. Li<sup>2</sup>, M. Davids<sup>2</sup>, B. Iorangescu<sup>9</sup>, W. Zhang<sup>2</sup>, S. Fernandes<sup>2</sup>, J. Brown<sup>10</sup>, A. Lako<sup>2</sup>, Z. Cianta<sup>2</sup>, K. Livak<sup>2</sup>, A. Letai<sup>2</sup>, D. Neuberg<sup>11</sup>, S. Carr<sup>12</sup>, F. Piccioni<sup>13</sup>, C. Ott<sup>14</sup>, C. Johannessen<sup>6</sup>, J. Doench<sup>13</sup>, V. Mootha<sup>4</sup>, G. Getz<sup>6</sup>, C. Wu<sup>15</sup>

<sup>1</sup> Hématologie clinique et thérapie cellulaire, CHU Estaim, Clermont-Ferrand ; <sup>2</sup> Medical oncology, Dana-Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis ; <sup>3</sup> Cancer, Broad Institute, Cambridge, États-Unis ; <sup>4</sup> Metabolism program, Broad Institute, Cambridge, États-Unis ; <sup>5</sup> Centro de investigación del Cáncer-IBMC, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca, Salamanca, Espagne ; <sup>6</sup> Cancer program, Broad Institute, Cambridge, États-Unis ; <sup>7</sup> Department of leukemia, MD Anderson Cancer Center, Houston, États-Unis ; <sup>8</sup> Cell biology, Harvard Medical School, Boston, États-Unis ; <sup>9</sup> Medical oncology, Brigham And Womens Hospital, Boston, États-Unis ; <sup>10</sup> Hematology/oncology, Dana-Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis ; <sup>11</sup> Department of biostatistics and computational biology, Dana-Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis ; <sup>12</sup> Proteomics, Broad Institute, Cambridge, États-Unis ; <sup>13</sup> Genetic perturbation platform, Broad Institute, Cambridge, États-Unis ; <sup>14</sup> Medical oncology, Mass General Hospital, Boston, États-Unis ; <sup>15</sup> Medical oncology, Dana Farber Cancer Institute, Boston, États-Unis

**Introduction.** Le vénétoclax est le premier inhibiteur de BCL-2 disposant d'une AMM dans la prise en charge de la leucémie lymphoïde chronique (LLC). Les situations de rechute sous vénétoclax vont prochainement constituer un important défi. Une mutation de BCL-2 perturbant la fixation du vénétoclax a été récemment identifiée (Blombery *Cancer Disc* 2018) mais seulement chez une partie des patients. Nous identifions ici l'implication d'autres mécanismes de résistance.

**Résultats.** Nous avons d'abord séquencé l'exome des échantillons tumoraux de 6 patients présentant une LLC en rechute sous vénétoclax (prélèvements effectués à l'initiation du traitement et au moment de la rechute sous vénétoclax). Nous n'avons retrouvé aucune mutation de BCL2 mais des profils complexes d'évolution clonale, suggérant des mécanismes multiples. Pour découvrir de façon systématique les déterminants génétiques régulant la sensibilité au vénétoclax, nous avons réalisé un screening du génome entier par des approches gain de fonction (GDF) et perte de fonction (PDF) par CRISPR/Cas9. La lignée cellulaire de lymphome surexprimant BCL-2 (OCI-Ly1) a été transduite par des lentivirus codant des librairies de ORF et de sgRNA ciblant le génome entier et exposée au vénétoclax. Les gènes capables de conférer une résistance comportaient : des membres de la famille BCL-2 dont *MCL1* ainsi que des gènes cruciaux de la transcription lymphoïde (*NFKB1A*, *IKZF5*, *ID3*, *EP300*, *NFIA*) et de la signalisation dépendante de l'AMP (*ADIPOQ*, *PRKAR2B* codant une unité de la protéine kinase A [PKA], *PRKAA2* codant l'unité catalytique de l'AMP kinase-AMPK). Pour préciser les mécanismes sous-jacents, nous avons caractérisé le transcriptome et le protéome différentiel entre la lignée OCI-Ly1 parentale et une lignée OCI-Ly1 rendue résistante par exposition chronique *in vitro* au vénétoclax. *MCL1* était le principal gène candidat commun avec les résultats des screening et son inhibition levait la résistance au vénétoclax, comme précédemment évoqué dans des travaux antérieurs. Nous avons aussi découvert de nombreux acteurs du métabolisme énergétique. Ces résultats, concordants avec la mise évidence des composants de AMPK, voie clé du métabolisme, ont motivé des explorations supplémentaires. Celles-ci ont révélé le rôle d'une augmentation du niveau de

phosphorylation oxydative dans la résistance au vénétoclax. Nous avons enfin identifié un circuit de résistance impliquant AMPK-PKA et le régulateur transcriptionnel ID3 dans la résistance au vénétoclax impliquant le métabolisme énergétique. Nous avons finalement vérifié ces observations chez les 6 patients résistants au vénétoclax. L'analyse des données de l'exome a retrouvé une amplification 1q23 dans la lignée résistante OCI-Ly1 et chez 3 de nos 6 patients. La région commune implique *MCL1* et *PRKAB2* codant une unité de AMPK. Nous avons également retrouvé en immunohistochimie une hyperexpression de *MCL1* et une activation de la signalisation AMPK dans les échantillons de rechute de certains patients.

**Conclusion.** Notre travail identifie l'hyperexpression de *MCL1* et son amplification génétique comme un facteur de résistance au vénétoclax chez les patients. Nous dévoilons également un autre mécanisme impliquant des modifications du métabolisme énergétique.

#### 04-15 Traitement de la leucémie lymphoïde chronique dans les stades B et C de Binet par le protocole FCR

B. Kachchour<sup>1</sup>, L. Hamri<sup>\*1</sup>, N. Oubelkacem<sup>1</sup>, S. Atik<sup>1</sup>, I. Khoussar<sup>2</sup>, W. Rhandour<sup>1</sup>, B. Bennani<sup>1</sup>, S. Saoudi<sup>1</sup>, K. Meliani<sup>1</sup>, R. Felk<sup>1</sup>, N. Alami<sup>1</sup>, Z. Khammar<sup>1</sup>, M. Ouazzani<sup>1</sup>, R. Berrady<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Médecine interne, CHU Hassan II, Fès, Maroc ; <sup>2</sup> Médecine interne, CHU Hassan 2, Fès, Maroc

**Introduction.** Les décisions thérapeutiques des patients atteints de LLC sont conditionnées, d'une part, par les caractéristiques de la maladie (Stade Clinique avancé, PS et autres facteurs de risque) et d'autre part, par une approche adaptée à une qualité de vie grâce à l'obtention d'une rémission complète améliorant la survie sans progression et globale.

**Patients et méthodes.** En 2012-2018, nous avons inclus 60 patients, 36 hommes et 24 femmes. L'âge moyen au moment du diagnostic est de 59,6 ans  $\pm$  7,8 ans, avec des extrêmes d'âge de [42 à 70 ans]. Le diagnostic est porté devant une lymphocytose  $> 4\ 000$  elts/mm<sup>3</sup>, et la cytométrie en flux ayant évalué un score de Matutes  $\geq 4$ . Du point de vue thérapeutique, les stades B et C de Binet, l'âge  $\leq 70$  ans et un PS 0-1 ont conforté l'administration du protocole FCR qui comporte : Fludarabine : 40 mg/m<sup>2</sup> IV J1-J3 (20 mg/m<sup>2</sup> si âge  $> 65$  ans, cyclophosphamide : 250 mg/m<sup>2</sup> IV J1-J3, rituximab : 375 mg/m<sup>2</sup> J1 (cycle 1) et 500 mg/m<sup>2</sup> J1 (cycles 2-6). Une prophylaxie systématique par du Bactrim fort 1 cp 3x/semaine et de l'aciclovir à 200 mg 2 cp/j pendant le traitement. Le but de cette étude est d'évaluer les réponses thérapeutiques et la tolérance du protocole RFC pendant 6 cycles mensuels.

**Résultats.** Les circonstances de découverte étaient dominées par la découverte d'une adénopathie chez 91,6 % des cas, la présence d'un syndrome anémique ou hémorragique chez 3,3 % et 5 % respectivement. Sur le plan clinique, le siège des adénopathies était électivement cervical, la splénomégalie était présente chez 43,3 % des cas. Sur le plan biologique le taux moyen des GB est de 117 311 elts/mm<sup>3</sup> (9 000-671 000) et celui des lymphocytes de 108 398 elts/mm<sup>3</sup> (7 200-658 000) ; le taux d'Hb est  $< 10$  g/dL dans 35 % des cas et celui des plaquettes est  $< 100\ 000$  elts/mm<sup>3</sup> dans 26,6 % des cas. L'immunophénotypage par CMF a mis en évidence un score de Matutes de 5/5 pour 88,3 % de patients et de 4/5 pour 11,7 %. Une forte expression du CD38 était notée chez 11,6 % des patients.

La classification selon Binet retrouve 26 patients (43,3 %) de stade B et 34 patients (56,7 %) de stade C.

Les résultats thérapeutiques retrouvent : RC : 48,6 %, RP : 3,3 %, stabilité : 6,6 %, progression : 3,3 %, 23,3 % des patients ont été perdus de vue, 6,6 % des patients sont toujours sous chimiothérapie et en cours d'évaluation thérapeutique et malheureusement nous déplorons 2 cas de transformation en un lymphome agressif et 3 cas de décès, secondaires à un choc septique dans tous les cas. L'évaluation de la toxicité grade  $\geq 3$  chez les patients ayant reçu au moins 3 cures retrouve, une neutropénie dans 33,33 %, une lymphopénie dans 25 % et une thrombopénie dans 18,3 % des cas. On enregistre une infection pleuropulmonaire chez 13 patients (21,6 %), une infection urinaire chez 7 patients (11,6 %) et une infection cutanée chez 2 patients (3,3 %).

**Conclusion.** La combinaison RFC est le traitement de première ligne le plus largement prescrit. Ses résultats sont très satisfaisants, la toxicité hématologique et particulièrement les infections sont gérables.

#### 04-16 L'infection par le virus de l'hépatite B, facteur de mauvais pronostic au cours de la leucémie lymphoïde chronique ? Étude cas-témoins

A. Sall<sup>\*</sup>, M. Seck, S. Fall, BF. Faye, M. Gadji, FS. Ndiaye, S. Diop, FAO. Touré

Hématologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal

**Introduction.** De nombreuses études ont montré une corrélation entre syndromes lymphoprolifératifs chroniques B (SLPB) et certaines infections

virales comme le VIH, le VHB et VHC. En effet, la stimulation virale chronique, le dérèglement du système immunitaire favoriseraient le développement de la lymphomagenèse. Toutefois, l'infestation par ces virus, constituerait-elle un facteur péjoratif au cours de SLPB ? Nous nous sommes intéressés à la LLC qui est la pathologie la plus fréquente des SLPB et au virus de l'hépatite B dont l'infestation concernerait plus de 10 % de la population sénégalaise. Dans une étude cas-témoins, nous avons recherché la prévalence du VHB dans ces 2 populations puis une corrélation entre la présence de l'infection et certains facteurs de mauvais pronostics de la LLC.

**Matériels et méthodes.** Le diagnostic de la LLC a été fait par l'hémogramme (Sysmex XT2000i, Sysmex Japon) et l'immunophénotypage des lymphocytes sanguins (Facsaliur, BD Bioscience USA). Nous avons utilisé les facteurs de mauvais pronostics suivants : lymphocytose > 100 G/L, pourcentage d'ombres de Gumprecht < 30 %, les stades B et C de Binet et positivité du CD38. Les témoins ont été appariés au cas en fonction de l'âge et du sexe ; ils étaient indemnes de toute pathologie lymphoïde. Ces témoins ont eu un examen clinique complet ainsi qu'un hémogramme à la recherche d'une lymphocytose et un frottis sanguin pour détecter des lymphocytes atypiques. La détection du virus de l'hépatite B a été effectuée chez les cas comme chez les témoins (Architect, Abbott Core USA). Les participants ont signé un consentement libre et éclairé. L'analyse des données a été effectuée par le logiciel IPSS et une valeur de  $p < 0,005$  était considérée comme statistiquement significatif.

**Résultats.** Au total, 117 patients ont participé à l'étude : 35 cas de LLC et 82 témoins. L'âge moyen de notre population d'étude était de 60 ans avec des extrêmes de 41 et 80 ans. Le sex-ratio était de 5.

Le virus de l'hépatite B (VHB) n'a été retrouvé que chez 2 témoins (1,6 %) alors qu'il était présent chez 7 cas soit 5,8 % ( $p < 0,0001$ ). Chez ces patients souffrant de LLC avec présence du VHB : 6/7 avaient une lymphocytose importante > 100 G/L ( $p = 0,43$ ), 5/7 avaient un pourcentage d'ombres de Gumprecht < 30 ( $p = 0,52$ ). À l'immunophénotypage, l'expression du CD38 a été retrouvée chez 5 des 7 patients ( $p = 0,35$ ). Tous les patients VHB+ avec une LLC avaient une maladie évolutive dont 5 stades C de Binet et 2 stades B de Binet, ( $p = 0,18$ ).

**Conclusion.** Notre étude a permis de retrouver une prévalence importante du VHB chez les patients avec une LLC comparé à la population de témoins. Même si l'étude de corrélation n'a pas révélé de significativité, les résultats montrent une plus grande fréquence des facteurs de mauvais pronostics chez les patients LLC avec présence du VHB. D'autres études sur des échantillonnages plus importants devraient être effectuées pour mieux établir cette tendance.

#### 04-17 Vénétoclax dans la leucémie lymphoïde chronique en rechute ou réfractaire : une étude FILO de la cohorte ATU en France

F. Bouclet<sup>1</sup>, A. Calleja<sup>2</sup>, MS. Dihuydy<sup>3</sup>, S. Amorim<sup>4</sup>, F. Cymbalista<sup>5</sup>, C. Herbaux<sup>6</sup>, S. De Guibert<sup>7</sup>, D. Roos-Weil<sup>8</sup>, B. Hivert<sup>9</sup>, T. Aurran<sup>10</sup>, J. Dupuis<sup>11</sup>, A. Blouet<sup>12</sup>, E. Tchernonog<sup>13</sup>, K. Laribi<sup>14</sup>, N. Dmytruk<sup>15</sup>, P. Morel<sup>16</sup>, AS. Michallet<sup>17</sup>, D. Caroline<sup>18</sup>, L. Farnault<sup>19</sup>, A. Lavaud<sup>20</sup>, I. Plantier<sup>21</sup>, JO. Bay<sup>22</sup>, O. Tournilhac<sup>22</sup>, A. Delmer<sup>23</sup>, P. Feugier<sup>24</sup>, L. Ysebaert<sup>25</sup>, R. Guizé<sup>26</sup>

<sup>1</sup> Hématologie clinique et thérapie cellulaire, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France, Clermont-Ferrand ; <sup>2</sup> Hématologie clinique, Hôpital L Archet1, Nice ; <sup>3</sup> Hématologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux ; <sup>4</sup> Hématologie clinique, Hôpital Saint-Louis, Paris ; <sup>5</sup> Hématologie biologique, Hôpital Avicenne, Bobigny ; <sup>6</sup> Service des maladies du sang, CH Régional Universitaire de Lille, Lille ; <sup>7</sup> Service d'hématologie clinique, Centre Hospitalier Pontchaillou, Rennes ; <sup>8</sup> Hématologie, Pitié-Salpêtrière, Paris ; <sup>9</sup> Hématologie, CH de Lens, Lens ; <sup>10</sup> Hématologie, Institut Paoli-Calmettes, Boulevard de Sainte-Marguerite, Marseille, France, Marseille ; <sup>11</sup> Hématologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil ; <sup>12</sup> Oncohématologie, CH de Cholet, Cholet ; <sup>13</sup> Hématologie clinique, Saint Eloi, Montpellier ; <sup>14</sup> Hématologie, centre hospitalier, Le Mans ; <sup>15</sup> Hématologie clinique et thérapie cellulaire, CHU de Limoges Dupuytren, Limoges ; <sup>16</sup> Hématologie Clinique et thérapie cellulaire, CHU, Amiens ; <sup>17</sup> Service d'hématologie, CH Lyon Sud, Pierre-Bénite ; <sup>18</sup> Service hématologie et thérapie cellulaire, Hôpital Bretonneau, Tours ; <sup>19</sup> Hématologie, Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille, Université de la Méditerranée, Marseille ; <sup>20</sup> Département d'hématologie, Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, Paris ; <sup>21</sup> Service d'hématologie clinique, CH de Roubaix, Roubaix ; <sup>22</sup> Hématologie clinique et thérapie cellulaire/EA Creat 7283, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France, Clermont-Ferrand ; <sup>23</sup> Hématologie, CHU De Reims, Reims ; <sup>24</sup> Hématologie, CHU de Nancy, Nancy ; <sup>25</sup> Hématologie clinique, IUCT Oncopole, Toulouse ; <sup>26</sup> Hématologie clinique et thérapie cellulaire, CHU Estaing, Clermont-Ferrand

**Introduction.** Le vénétoclax est un inhibiteur de BCL-2 indiqué dans les LLC avec une inactivation de TP53, en échec ou inéligibles à un traitement par au moins un inhibiteur du BCR (BCRi) ou les LLC sans anomalie de TP53, après un traitement de référence et en échec ou inéligibles à un traitement par BCRi. Il permet l'obtention d'une réponse globale (RG) de 79 % en situation de rechute ou de maladie réfractaire (R/R), et ce indépendamment du statut TP53 dans un essai de phase précoce (Roberts NEJM 2016). Son intérêt en situation de vie réelle avec un suivi prolongé reste à déterminer. Notre objectif a été d'évaluer l'efficacité et la tolérance du vénétoclax et le devenir des patients traités dans le cadre de l'autorisation temporaire d'utilisation de cohorte ouverte en France entre le 22 juillet et le 4 décembre 2016 pour les patients atteints de LLC R/R. Nous avons mené au sein du FILO une analyse rétrospective de l'ensemble des patients présentant une LLC et inclus dans ce programme et qui avaient reçu du vénétoclax pour une durée supérieure à 1 jour.

**Résultats.** Un total de 67 patients a été inclus dans la présente analyse. Les patients avaient reçu le vénétoclax pour une LLC en progression (60) ou en transformation (syndrome de Richter (SR)) (7). L'âge médian était de 67 ans avec un sex-ratio M/F de 49/18. Les patients avaient déjà reçu une médiane de 4[0-7] lignes thérapeutiques antérieures : 46 (68%) avaient déjà reçu FCR, 49 (73 %) un inhibiteur de la BTK (BTKi), et 21 (31 %) un inhibiteur de PI3K $\delta$  (PI3K $\delta$ i) ; 6 avaient préalablement bénéficié d'une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) et 6 d'une allogreffe de CSH. Trente-cinq patients (52 %) présentaient une disruption de TP53 et 22 (32 %) présentaient un caryotype complexe ( $\geq 3$  anomalies). Le statut mutationnel IGHV était disponible pour 27 patients (non muté chez 18). Parmi les événements indésirables, un syndrome de lyse tumorale (SLT) a été observé dans 21 % des cas (3 % de SLT cliniques). Cinq (8 %) patients avec LLC ont évolué en SR sous vénétoclax. En ce qui concerne les patients ayant reçu le vénétoclax pour une LLC en progression ( $n = 60$ ), le taux de RG était de 75 %. Elle ne différait pas significativement selon le statut TP53 (80 % avec disruption de TP53 vs 72 %,  $p = 0,636$ ). Un caryotype complexe semblait être associé à un plus faible taux de RG (92 % vs 59 %,  $p = 0,04$ ). Aucun impact significatif du type de BCRi antérieur (BTKi vs PI3K $\delta$  inhibiteur) n'a été relevé. La survie sans progression à 2 ans était de 58 % sans impact significatif du statut TP53. Les patients avec caryotype complexe présentaient une survie sans progression à 2 ans de 39 %, contre 75 % chez les patients sans caryotype complexe ( $p = 0,1$ ). La survie globale (SG) à 2 ans était de 64 % est significativement meilleure chez les patients répondeurs que chez les non-répondeurs (79 % vs 33 %,  $p < 0,001$ ). L'atteinte de TP53 n'influait pas significativement la SG ( $p = 0,725$ ). La SG à 2 ans des patients ayant un caryotype complexe était de 47 % contre 67 % pour le reste de la cohorte ( $p = 0,08$ ). Parmi les 7 patients ayant reçu du vénétoclax pour un RS, 2 ont eu une réponse objective pour une durée de 7 et 14 mois. Toutefois, la médiane de survie globale (OS) n'était que de 1,1 mois (IC à 95 % : 0,7-1,5).

**Conclusion.** Notre étude en situation réelle montre des taux de réponse et des données de survie conformes à ceux observés dans les premiers essais cliniques sur le vénétoclax. Un caryotype complexe doit être évalué comme facteur prédictif de la réponse au vénétoclax.

#### 04-18 Survie à long terme des patients leucémie lymphoïde chronique traités en première intention par fludarabine + cyclophosphamide + rituximab

S. Taoussi\*, H. Brahimi, S. Oukid, N. Rebab, KM. Benlabiod, Y. Bouchakor Moussa, C. Guezlane, F. Lamraoui, MT. Abad, M. Bradai

Hématologie, CAC, Laboratoire Hémopathies malignes et hémoglobinopathies, Université Blida 1, Blida, Algérie

**Introduction.** Le protocole fludarabine + cyclophosphamide + rituximab (FCR) en première ligne a été pendant très longtemps le standard thérapeutique de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) des patients Fit ; dans les pays émergents il demeure toujours la référence par manque d'autres moyens thérapeutiques en particulier pour les formes à haut risque : anti-BTK et anti-Bcl2. Sous RFC le taux de réponse globale est de près de 90 % et celui de la réponse complète concerne près des 2/3 des patients. Cependant, malgré ces bons résultats initiaux, une proportion importante de patients rechute.

Nous présentons les résultats à long terme d'une cohorte de patients traités en première intention par RFC et suivis dans un seul centre.

**Patients et méthodes.** Nous rapportons une série de 76 patients recrutés de janvier 2007 à octobre 2017. Il s'agit de 68 hommes et 8 femmes (sex-ratio = 8,5) âgés de 38 à 69 ans (âge moyen = 56 ans). Le diagnostic a été posé sur l'hémogramme, la cytologie et l'immunophénotypage lymphocytaire par cytométrie en flux. La recherche des délétions P53 et ATM a été faite par FISH au diagnostic chez tous les pts.

Le protocole RFC : le rituximab est donné à raison de 375 mg/m<sup>2</sup> J0 au cycle 1 puis 500 mg/m<sup>2</sup> les cycles suivants, la fludarabine à 25 mg/m<sup>2</sup> IV J1-J3 et le cyclophosphamide à 250 mg/m<sup>2</sup> IV J1-J3 pour un total de

6 cures ; une prophylaxie systématique \*\*\*\* par Bactrim forte 1 cp × 3 fois/semaine [2 pts allergiques ont été mis sous pentamidine aérosol] et Aciclovir 2 cp/j pendant 6 mois et autant après la fin du traitement. L'évaluation du traitement des patients est faite selon les critères du NCI. Le point est fait le 31 décembre 2018 avec un recul minimal de 14 mois et maximal de 100 mois.

**Résultats.** La répartition des patients en stades selon Binet : stade B : 39 (51,3 %), stade C : 37 (48,7 %).

Nous avons retrouvé 15 del(ATM) (11q22,3) soit 20 %, 8 del(P53) (17p13) soit 10,5 % et une del(P53) associée à une del(ATM) (1,3 %). En fonction du stade de Binet, dans les del(ATM) : 40 % sont au stade C, dans les del(P53) : 66,6 % sont aux stades C.

Les résultats thérapeutiques selon les critères du NCI : la réponse globale a été obtenue dans 90,8 % des cas (RC : 56,5 %, RPN : 29 %, RP : 5,3 %) et un échec dans 9,2 %.

La toxicité du protocole est surtout hématologique, parfois sévère mais gérable.

Devenir des patients : sur les 43 pts en RC : 24 ont rechuté soit 55,8 % ; 18 patients sont décédés (23,6 %) dont 6 en échec primaire.

Nous avons noté 10 décès (55,5 %) sur 18 qui sont des del(P53) dans 5 cas et des del(ATM) dans 5 autres cas. La médiane de survie globale n'est pas atteinte ; la médiane de survie sans événement est de 40,7 mois.

**Conclusion.** La moitié de cette cohorte de LLC est à haut risque : stade C = 48,7 %, un tiers des patients présentent soit une del(P53) soit une del(ATM) réputées être de très mauvais pronostic et réfractaires au traitement par la fludarabine. En comparant nos résultats à ceux de la littérature, nous avons plus de stade C, les anomalies cytogénétiques à haut risque sont également plus importantes ; en termes de réponse globale, dans notre contexte, ce taux (90,8 %) est satisfaisant, contrastant avec un taux de rechute élevé (56 %). Ces résultats peuvent être améliorés lorsque nous disposeront des traitements ciblés (anti-BTK et anti-Bcl2) en deuxième ligne, voir en première ligne pour la population à haut risque cytogénétiques qui constitue une partie non négligeable de nos patients.

#### 04-19 Test fonctionnel de la p53 et corrélation avec la délétion 17p et/ou les mutations de TP53 dans la leucémie lymphoïde chronique. Résultats du protocole ICLL001 BOMP sous l'égide du groupe FILO

M. Le Garff-Tavernier<sup>1</sup>, C. Quiney<sup>1</sup>, L. Veronese<sup>2</sup>, F. Nguyen-Khac<sup>3</sup>, P. Robbe<sup>4</sup>, P. Combes<sup>5</sup>, M.S. Dillhydy<sup>6</sup>, P. Feugier<sup>7</sup>, B. Mahé<sup>8</sup>, L. Sanhes<sup>9</sup>, A. Delmer<sup>10</sup>, L. Ysebaert<sup>11</sup>, M. Truchan-Graczyk<sup>12</sup>, B. Dreyfus<sup>13</sup>, S. Choquet<sup>14</sup>, T. Auran<sup>15</sup>, E. Ferrant<sup>16</sup>, C. Dartigeas<sup>17</sup>, S. Lepretre<sup>18</sup>, G.M. Pica<sup>19</sup>, F. Davi<sup>3</sup>, B. Pereira<sup>20</sup>, R. Delepine<sup>21</sup>, A. Schuh<sup>22</sup>, R. Guizèze<sup>23</sup>, J.O. Bay<sup>24</sup>, V. Leblond<sup>14</sup>, H. Merle-Béral<sup>1</sup>, S. De Guibert<sup>25</sup>, O. Tournilhac<sup>24</sup>

<sup>1</sup> Hématologie biologique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ; <sup>2</sup> Cytogénétiques médicale/EA 4677 Eritica, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France, Clermont-Ferrand ; <sup>3</sup> Service d'hématologie biologique, AP-HP La Pitié-Salpêtrière, Paris ; <sup>4</sup> Radcliffe department of medicine, Oxford Molecular Diagnostics Centre, University of Oxford, Oxford, Royaume Uni ;

<sup>5</sup> Cytogénétiques médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France, Clermont-Ferrand ; <sup>6</sup> Hématologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux ; <sup>7</sup> CHRU de Nancy, Service d'Hématologie, Nancy ; <sup>8</sup> Hématologie, Hôtel-Dieu, Nantes ; <sup>9</sup> Hématologie, Hôpital Saint Jean, Perpignan ; <sup>10</sup> Hématologie, CHU de Reims, Reims ; <sup>11</sup> Hématologie clinique, IUCT Oncopole, Toulouse ; <sup>12</sup> Hématologie, CENTRE HOSPITALIER DE SAUMUR, Saumur ;

<sup>13</sup> Hématologie, CHU, Poitiers ; <sup>14</sup> Hématologie clinique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ; <sup>15</sup> Hématologie, Institut Paoli-Calmettes, Boulevard de Sainte-Marguerite, Marseille, France, Marseille ; <sup>16</sup> Hématologie, Hôpital Louis Pradel - HCL, Bron ; <sup>17</sup> Service hématologie et thérapie cellulaire, Hôpital Bretonneau, Tours ; <sup>18</sup> Hématologie clinique, CENTRE HENRI BECQUEREL, Rouen ; <sup>19</sup> Hématologie clinique, Hôpital - Centre hospitalier Métropole Savoie, Chambéry ; <sup>20</sup> Biostatistiques - direction de la recherche clinique et de l'innovation, CHU Gabriel-Montpied, Clermont-Ferrand ; <sup>21</sup> Hématologie, CHU, Tours ; <sup>22</sup> University, Université d'Oxford, Oxford, Royaume Uni ; <sup>23</sup> Hématologie clinique et thérapie cellulaire, CHU Estaing, Clermont-Ferrand ; <sup>24</sup> Hématologie clinique et thérapie cellulaire/EA Creat 7283, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France, Clermont-Ferrand ; <sup>25</sup> Service d'hématologie clinique, Centre Hospitalier Pontchaillou, Rennes

**Introduction.** La del(17p) entraînant la perte du gène TP53 est associée à une réponse altérée à une majorité de traitements chez les patients LLC. Elle est généralement associée à une mutation de TP53, induisant une perte de fonction de la voie p53. Les recommandations de l'iwCLL préconisent la recherche de del(17p) et des mutations TP53 avant chaque ligne de traitement. Une approche originale est l'analyse fonctionnelle, mettant en évidence les anomalies de p53, qu'il s'agisse d'une anomalie de TP53 (del(17p) et/ou mutation) ou d'un défaut d'un autre acteur de la voie p53. Notre objectif est de valider ce test fonctionnel dans un essai prospectif et d'étudier l'impact du statut p53 sur la réponse clinique.

**Patients et méthodes.** Les données ont été collectées auprès de 74 pts LLC réfractaires ou en rechute, inclus dans un essai de phase II, évaluant six cycles de bendamustine, ofatumumab et méthylprednisolone. Nous avons évalué p53 au moment de l'inclusion : i) recherche de del(17p) par FISH, ii) recherche de mutations TP53 par séquençage Sanger (exons 2-11) ainsi que par NGS (19 gènes, Illumina MiSeq), iii) évaluation de la fonction de p53 par induction de l'expression de p53 et p21 après exposition à l'étoposide + nutlin-3, permettant la détection de 3 types de dysfonction, indépendamment d'un défaut d'ATM. La réponse clinique a été évaluée par les PFS, OS et TTNT (Kaplan-Meier, MedCalc stat).

**Résultats.** A l'inclusion, une del(17p) est détectée dans 30 % des cas (22/73 pts, médiane de cellules positives 68 %, range 10-98). Le pourcentage d'anomalies de p53 atteint 41 % avec l'étude des mutations (30/73 pts avec 1 à 8 mutations, VAF médian 10 %, range 1,6-90). Le niveau le plus élevé d'anomalies est obtenu par le test fonctionnel, avec une dysfonction p53 chez 48 % des pts (33/69, dysfonctions de type A (n = 11), B (n = 17) et C (n = 5)). La sensibilité et la spécificité du test fonctionnel p53 pour détecter les pts avec del(17p) et/ou mutations sont de 87 % et 84 %. Des résultats discordants ont été observés chez 10 pts : 4 pts avec une p53 fonctionnelle malgré une anomalie du gène TP53 et inversement 6 pts avec une dysfonction p53 (tous de type B) sans anomalie structurale de TP53 suggérant d'autres anomalies sur la voie p53. La seule similitude entre ces derniers patients est la présence d'une anomalie ATM (del(11q) et/ou mutation). La combinaison de ces 3 tests permet de définir 3 groupes : (1) « p53 intacte » (pas d'anomalie du gène TP53 et p53 fonctionnelle, n = 32), (2) « p53 altérée » (anomalie sur le gène TP53 et dysfonction de la p53, n = 26) et (3) « p53 discordant » (n = 10). La PFS et le TTNT sont plus élevés chez les patients sans (n = 38) que chez ceux avec une anomalie du gène TP53 (n = 30) (p = 0,04). L'OS présente une tendance similaire. L'évaluation du statut fonctionnel révèle un profil similaire, mais avec une meilleure discrimination entre les pts avec fonction p53 normale (n = 36) de ceux avec une dysfonction de p53 (n = 32) (p = 0,002 et 0,003). De façon très intéressante, la PFS et le TTNT du groupe 3 « p53 discordant » apparaît intermédiaire.

**Conclusion.** Cette étude montre qu'une analyse fonctionnelle de p53 peut prédire la présence d'une anomalie de TP53. Cette analyse fonctionnelle couplée à un dépistage cytogénétique et mutationnel pourrait révéler un groupe de patients présentant des résultats discordants pour lesquels la PFS et le TTNT apparaissent intermédiaires. L'évaluation d'autres cas discordants est nécessaire pour confirmer ces résultats et pourrait conduire à une utilisation plus large de cette approche fonctionnelle originale et globale.

#### 04-20 Facteurs favorisant les infections au cours de la leucémie lymphoïde chronique

H. Ahmidatou\*, C. Kerar, M. Sebai, Z. Kaci, M. Belhani, N. Boudjerra

Service d'hématologie, CHU Beni Messous, Alger, Algérie

**Introduction.** Les infections sont la cause majeure de morbidité et de mortalité chez les patients atteints de leucémie lymphoïde chronique (LLC). Elles représentent des manifestations cliniques d'une immunodéficience multifactorielle. Nous avons mené cette étude afin d'identifier les facteurs favorisant ces infections chez nos patients dans un but de les prévenir ou les corriger.

**Patients et méthodes.** Nous avons étudié les dossiers médicaux des patients LLC, nouvellement diagnostiqués sur une période de 4 ans (2014-2017). Dans un premier temps, nous avons recensé tous les épisodes infectieux de grade 2 ou plus survenus pendant le suivi. Puis dans un deuxième temps, nous avons comparé par un test de Chi-carré les groupes avec et sans infection en étudiant les paramètres suivants : comorbidités associées, antécédents de vaccination antipneumococcique, stade de Binet, taux de lymphocytes au diagnostic, taux des gammaglobulines, antibioprophylaxie, prescription de chimiothérapie. La survie et la cause du décès ont été aussi notées.

**Résultats.** Soixante-douze patients ont été inclus parmi lesquels 28 patients (39 %) ont présenté au moins un épisode infectieux de grade 2 ou plus. Au total 45 épisodes infectieux ont été notés. 28 étaient de grade 2 (62 %), 13 de grade 3 (29 %) et 4 de grade 4 (9 %). Ces infections étaient d'origine bactérienne dans la majorité des cas 33 épisodes (73 %). Au premier plan venaient les infections ORL : 12 épisodes (27 %), pulmonaires : 9 épisodes (20 %). L'analyse univariée comparant le groupe des patients présentant au moins une infection avec le groupe sans infection était non significative (pas de différence entre les deux groupes) pour les paramètres suivants : présence de comorbidité, stade de Binet, vaccination antipneumococcique, hypogammaglobulinémie, taux de lymphocytes au diagnostic (p = 0,76 ; 0,61 ; 0,52 ; 0,26 et 0,64 respectivement). L'analyse était significative entre les deux groupes pour le fait que le malade est sous antibioprophylaxie et qu'il ne reçoit pas de chimiothérapie (p < 0,0001 et 0,003 respectivement). L'infection était la cause de décès chez 9 patients (60 %) parmi les 15 décédés de la série.

**Conclusion.** L'interprétation de la survenue d'infections au cours de la LLC est complexe. Dans notre étude, la prescription de chimiothérapie est

un facteur favorisant les infections tandis que l'antibioprophylaxie au long cours est un facteur protecteur des patients.

**04-21 Profil clinique, biologique et évolutif de la leucémie lymphoïde chronique après l'avènement du rituximab au Maroc : expérience monocentrique**

N. Benlachgar\*, K. Zine Filali, M. Ababou, H. Adnane, EM. Mahtat, H. Elmaaroufi, S. Jennane, M. Mikdame, K. Doghmi

Hématologie clinique, Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V, Rabat, Maroc

**Introduction.** L'introduction du rituximab dans le traitement de la leucémie lymphoïde chronique avait permis une amélioration du pronostic de cette pathologie. Nous avons donc voulu décrire notre série de cas de patient atteint de leucémie lymphoïde chronique à l'aire du rituximab.

**Patients et méthodes.** Il s'agit d'une étude rétrospective ayant colligé tous les patients suivis pour LLC au sein du service d'hématologie clinique de l'hôpital militaire Mohammed V d'instruction de Rabat depuis janvier 2010 et jusqu'à décembre 2016. L'objectif de l'étude était la description sur le plan épidémiologique, clinique, paraclinique et thérapeutique notre série de cas de leucémie lymphoïde chronique.

**Résultats.** Sur un total de 36 patients, L'âge moyen était de 62 [53-70] avec un sex-ratio de 3.

Sur le plan clinique, des signes B étaient présents chez 55,6 % des patients. Un syndrome tumoral a été objectivé chez 72 % des patients. Le taux moyen de lymphocytes était de 35 350 [10 424-112 861]. Une anémie et une thrombopénie ont été retrouvées respectivement chez 33 % et 16 % des patients. Le score de Matutes était à 4 chez 30 % des cas et à 5 chez 70 %. La  $\beta_2$ -microglobuline était élevée chez 20 % des patients. 33,3 % des patients étaient en stade A de Binet, 41,7 % en stade B et 25 % en stade C.

Dans le cadre de l'évaluation pronostic 13 patients ont bénéficié d'une recherche par des anomalies cytogénétiques par FISH. Une del(13q14) a été retrouvée chez 33 % des patients et une del(17p) chez 15,4 %.

Sur le plan thérapeutique, 72,2 % des patients étaient symptomatiques ont nécessité un traitement de première ligne. Il était à base de RFC chez 38,9 % des cas, à base de chloraminophène  $\pm$  (rituximab ou corticoides) chez 19,4 % des patients et par du COP  $\pm$  (rituximab ou doxorubicine) chez 13,9 % des patients. Sur l'ensemble des cas traités 65 % ont bénéficié de protocole à base de rituximab. Tous les patients traités par RFC ont bénéficié d'une prophylaxie par triméthoprime-sulfaméthoxazole et aciclovir.

La médiane de survie sans progression était de 27 [11,45] mois. Le décès est survenu chez 27,8 % des patients sur un suivi médian de 39 mois. La principale cause de décès était l'infection pulmonaire rapportée chez 5 patients.

**Conclusion.** Selon les résultats de notre étude les données épidémiologiques et cliniques rejoignent celle de la littérature, malgré le faible effectif de la population étudiée. De nouvelles thérapies ciblées telles que l'ibrutinib et le vénétoclax pourront renforcer prochainement notre arsenal thérapeutique, notamment pour les patients porteurs de la del(17p), au prix d'un coup très élevé.

**04-22 NFKBIE contrôle la prolifération des lymphocytes B et son inactivation entraîne le développement d'une lymphoprolifération B indolente chez la souris âgée**

D. Roos-Weil<sup>1</sup>, V. Della-Valle<sup>2</sup>, L. Scourzac<sup>2</sup>, E. Mouly<sup>2</sup>, Y. Lecluse<sup>3</sup>, F. Damm<sup>4</sup>, S. Memet<sup>5</sup>, T. Mercher<sup>2</sup>, S. Aoufouchi<sup>6</sup>, F. Nguyen-Khac<sup>7</sup>, O. Bernard<sup>8</sup>, H. GHAMLOUCH<sup>9</sup>

<sup>1</sup> Hématologie, Pitié-Salpêtrière, Paris ; <sup>2</sup> U1170, Institut Gustave Roussy, Villejuif ; <sup>3</sup> Imagerie et cytométrie, Gustave Roussy, Villejuif ; <sup>4</sup> IGR, Inserm, Paris ; <sup>5</sup> CIML, Inserm, Luminy ; <sup>6</sup> CNRS UMR8200, Gustave Roussy, Villejuif ; <sup>7</sup> Service d'hématologie biologique, AP-HP La Pitié-Salpêtrière, Paris ; <sup>8</sup> UMR 1170, Institut Gustave Roussy, Villejuif ; <sup>9</sup> Inserm U1170, Gustave Roussy - Inserm U1170, Villejuif

**Introduction.** Une activité de la voie NF $\kappa$ B est observée dans la majorité des lymphomes et des lymphoproliférations B. Des mutations somatiques inactivatrices récurrentes du gène *NFKBIE* ont été rapportées dans plusieurs hémopathies B, notamment la leucémie lymphoïde chronique, le lymphome primaire du médiastin et le lymphome diffus à grandes cellules B. *NFKBIE* code pour I $\kappa$ B $\epsilon$ , un régulateur négatif de la signalisation de NF $\kappa$ B. Les lymphocytes B humains et murins inactivés pour *NFKBIE* montrent une activation de la voie NF $\kappa$ B, mais l'impact de l'inactivation de Nfkbie sur le développement et le fonctionnement des lymphocytes B n'est pas bien connu.

**Résultats.** Dans un modèle murin constitutivement inactivé pour Nfkbie, nous avons montré une amplification des cellules B de la zone marginale (Nfkbie-WT 8 % vs Nfkbie-KO 16 %,  $p = 0,0005$ ) et une expansion des lymphocytes B de type B1 CD19+ B220low CD5+ (dans la rate : WT 1 % vs KO 4 %,  $p = 0,0023$ , dans la cavité péritonéale : WT 26 % vs KO 77 %,  $p = 0,0021$ ). Nous avons observé des amplifications similaires dans un modèle de greffe de cellules souches hématopoïétiques confirmant leur caractère intrinsèque. Chez les souris âgées (après 12 mois), l'inactivation de Nfkbie entraîne le développement d'une lymphoprolifération des lymphocytes B B1 indolente et oligoclonale ressemblant à la lymphocytose B monoclonale chez 50 % (5/10) des souris.

L'analyse de la réponse aux stimuli des LB a montré que la perte de Nfkbie induit l'hyperprolifération des lymphocytes B B1 en réponse à la stimulation par le TLR. L'immunisation des souris Nfkbie-KO jeunes avec des globules rouges de mouton (SRBC), un antigène inducteur d'une réponse immunitaire T-dépendante, induit une hyperplasie du centre germinatif (CG) (% de cellules B de CG, WT 2,8 % vs KO 7,5 %,  $p = 0,0098$ ), favorise la commutation isotypique vers les IgG1 (% de cellules B de CG IgG1+, WT 32 % vs KO 47 %,  $p = 0,0026$ ) et augmente la génération de lymphocytes B mémoires (WT 0,34 % vs KO 1,12 %,  $p = 0,0242$ ). L'hyperplasie du centre germinatif est due à une entrée en cycle plus importante des lymphocytes B Nfkbie-KO du centre germinatif. Nous montrons également que la perte de Nfkbie coopère avec la signalisation de MYD88 et augmente la prolifération des LB.

**Conclusion.** Ce travail i) montre que NFKBIE contrôle la prolifération du LB en réponse aux stimuli externes et joue un rôle dans le contrôle de la réponse humorale, ii) met en évidence une coopération entre la dérégulation intrinsèque de la voie NF $\kappa$ B par l'inactivation via des mutations somatiques de NFKBIE et les signaux extracellulaires (e.g. stimulation des TLR) dans le développement des hémopathies B.