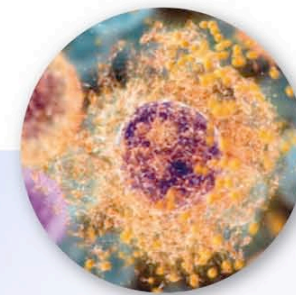
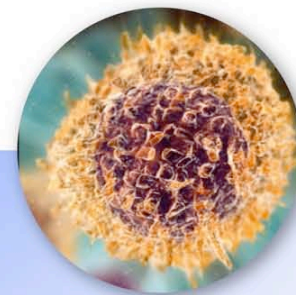
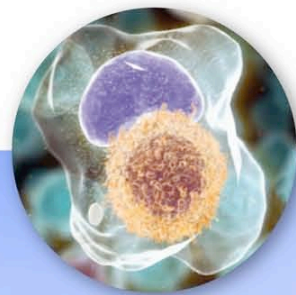


Les Ateliers Lymphomes et LLC

22 – 24 octobre 2009

Le Moulin de la Forge – Le Vaumain (60)



Sous le patronage de



En collaboration avec



En partenariat avec



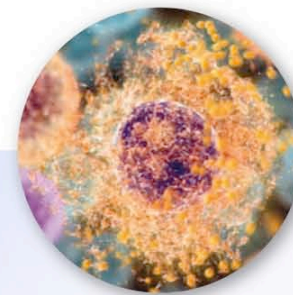
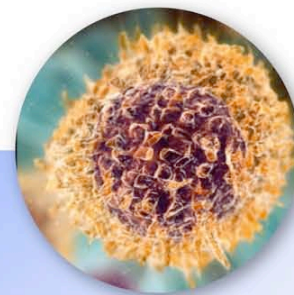
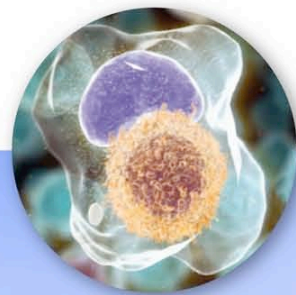
Avec le soutien institutionnel de





5^{ème} session : Leucémie Lymphoïde Chronique

Modérée par Hervé GHESQUIERES



Sous le patronage de



En collaboration avec



En partenariat avec



Avec le soutien institutionnel de





Programme de la session

5^{ème} session : LLC - Modérée par H. Ghesquières

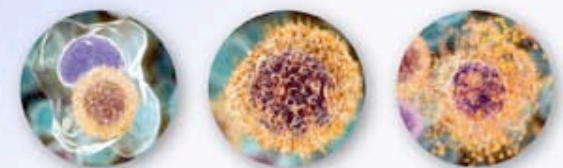
Facteurs pronostiques cliniques et biologiques	A. Delmer
Objectifs thérapeutiques de 1 ^{ère} ligne	V. Leblond
Place des greffes	M. Mohty
Complications infectieuses de la LLC : pourquoi les LLC font plus d'infections ? Prophylaxie	S. Leprêtre
Cas clinique interactif	Présenté par H. Ghesquières





Leucémie lymphoïde chronique : facteurs pronostiques

*Alain DELMER,
Hématologie Clinique, CHU Reims*



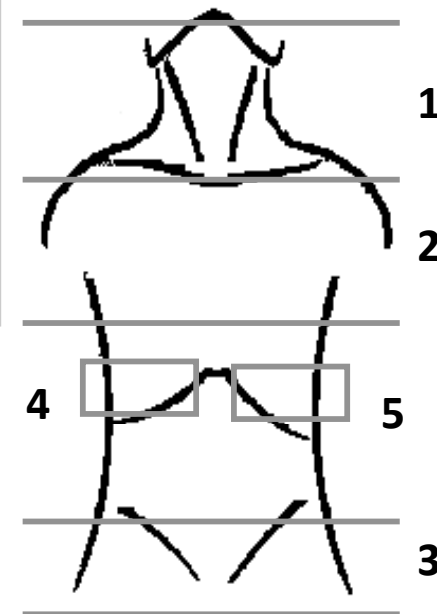


Classification de Binet

stade A	Hb \geq 100 g/l et plaq \geq 100 x 10 ⁹ /l < 3 aires lymphoïdes atteintes
stade B	Hb \geq 100 g/l et plaq \geq 100 x 10 ⁹ /l \geq 3 aires lymphoïdes atteintes
stade C	Hb < 100 g/l et/ou plaq < 100 x 10 ⁹ /l quel que soit le nombre d'aires lymphoïdes atteintes

stade A'	lymphocytes < 30 x 10 ⁹ /l Hb \geq 120 g/l
stade A''	lymphocytes \geq 30 x 10 ⁹ /l Hb < 120 g/l

définition des aires lymphoïdes





Classification de Binet / signification pronostique

	% des patients	survie médiane	
		étude LLC-76*	étude LLC-90#
stade A <i>(bon pronostic)</i> stade A' stade A''	80%	> 10 ans > 10 ans 7 ans	
stade B <i>(pronostic intermédiaire)</i>	30%	5 ans	→ 81 mois
stade C <i>(mauvais pronostic)</i>	7%	2 ans	→ 60 mois

* Binet et al., Cancer 1981, 48 : 198-206

Leporrier et al. Blood 2001, 98 : 2319-25





Classification de Rai

		% des patients	survie médiane (années)
stade 0	lymphocytes $> 5 \times 10^9/l$	31%	> 10
stade I	lymphocytes $> 5 \times 10^9/l$ + adénopathies	35%	9
stade II	lymphocytes $> 5 \times 10^9/l$ + splénomégalie ou hépatomégalie \pm adénopathies	26%	5
stade III	lymphocytes $> 5 \times 10^9/l$ hémoglobine $< 110 \text{ g/l}$ \pm organomégalie	6%	1.5
stade IV	lymphocytes $> 5 \times 10^9/l$ plaquettes $< 100 \times 10^9/l$ \pm organomégalie	2%	1.5

Rai et al., Blood 1975, 46 : 219-34





Facteurs pronostiques

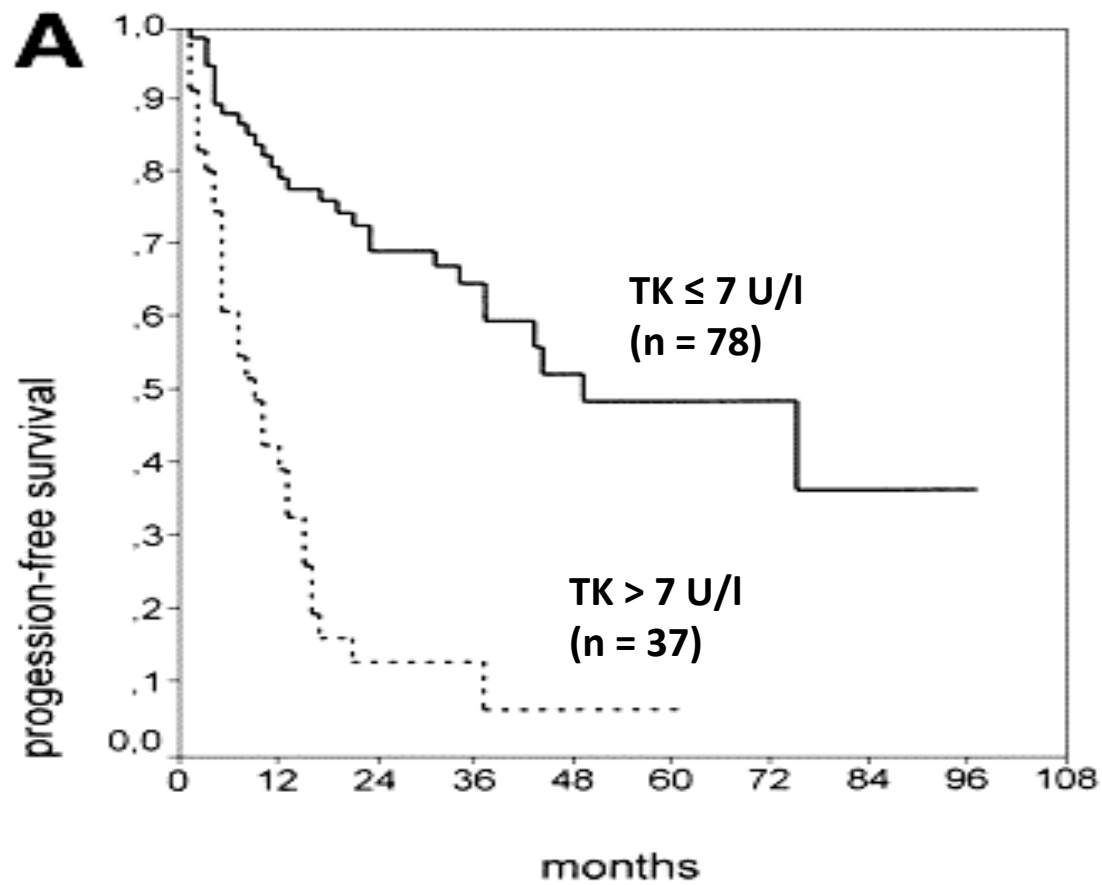
- **stade (Binet, Rai)**
- lymphocytose sanguine (valeur absolue)
- type d'infiltration médullaire (BM)
- morphologie des lymphocytes
- **temps de doublement des lymphocytes sanguins (LDT)**

- Marqueurs sériques
thymidine kinase CD23s CD20s LDH β 2-microglobuline



Stades A / taux sérique de thymidine kinase (TK)

survie sans progression

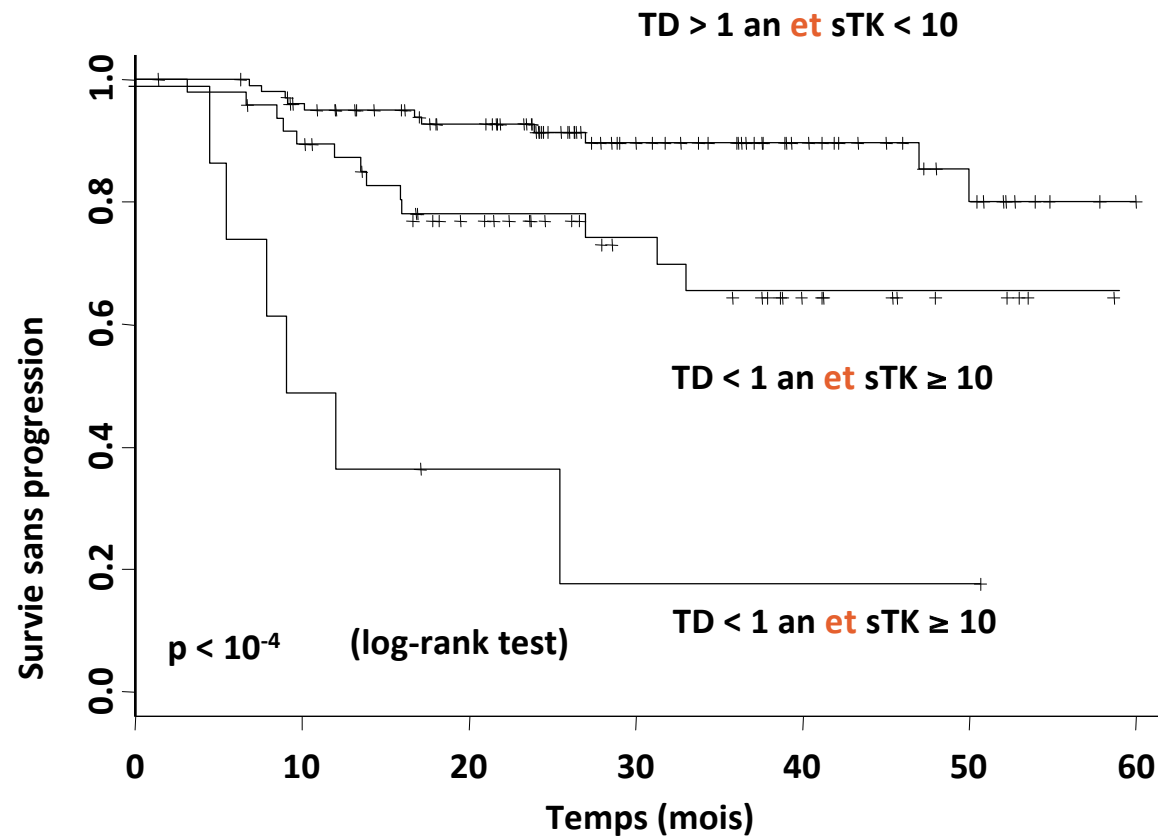


Hallek et al., Blood 1999, 93 : 1731-7



Stades A / risque de progression / TDL et TK

étude pronostique préalable au protocole CLL7 (GCFLLC-MW et GCLLSG)



unpublished



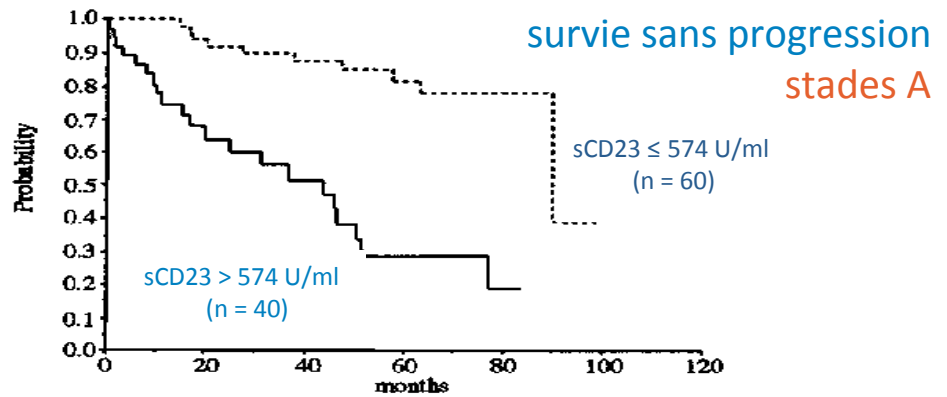
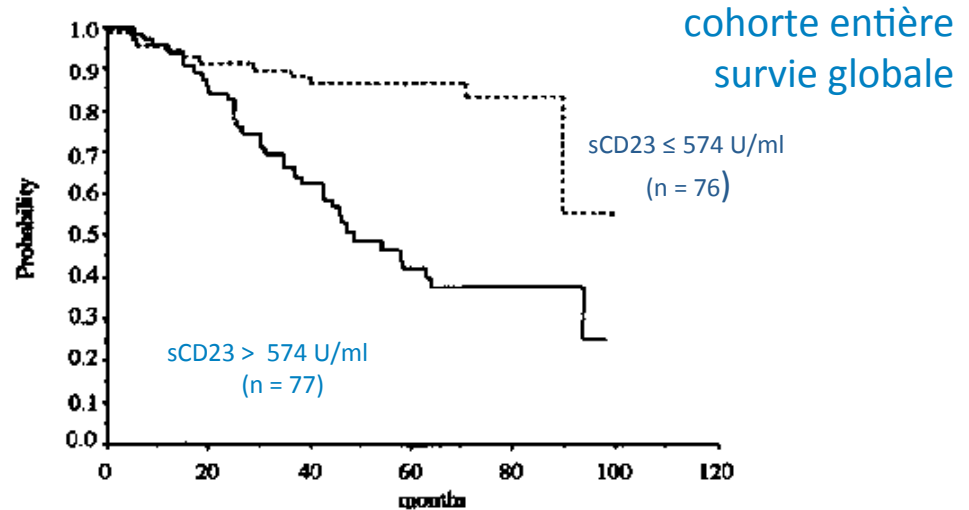
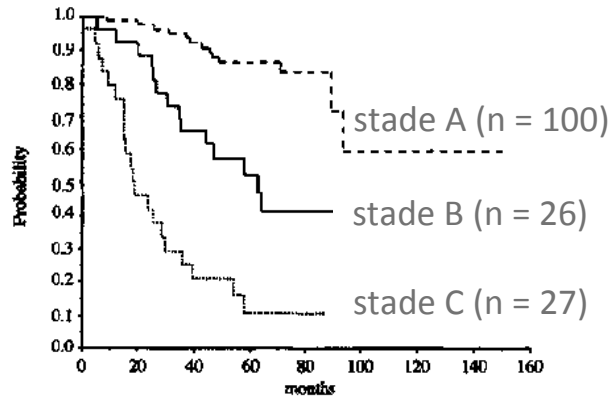


LLC / taux de CD23 soluble

153 pts stade A 100 pts,
 stade B 26 pts,
 stade C 27 pts

suivi médian 78 mois

survie globale



Sarfati et al., Blood 1996, 88 : 4259-64





Facteurs pronostiques

- **stade (Binet, Rai)**
- lymphocytose sanguine (valeur absolue)
- type d'infiltration médullaire (BM)
- morphologie des lymphocytes
- **temps de doublement des lymphocytes sanguins (LDT)**

- Marqueurs sériques
thymidine kinase CD23s CD20s LDH β 2-microglobuline

- **cytogénétique (FISH et ... caryotype)**
- **profil mutationnel des gènes VH (muté vs non muté)**
- **expression du CD38**
- **ZAP 70 / autre(s) surrogate(s) du statut VH ?**
- séquence VH (ex. VH1-69, VH3-21)*

* VH1-69 : formes non mutées, VH3-21 : mauvais pronostic même si formes mutées



Anomalies cytogénétiques / FISH

325 patients : stade A 170, stade B 102, stade C 52 (non antérieurement traités 248)
FISH sur cellules interphasiques - délai diagnostic/analyse cytogénétique : 15 mois (1-43)

anomalie	n pts	%
anomalies clonales	268	82%
FISH normal	57	18%

1 seule anomalie	175
2 anomalies	67
≥ 2 anomalies	26

délétion 13q	178	55%
délétion 11q	58	18%
trisomie 12q	53	16%
délétion 17p	23	7%
délétion 6q	21	6%
trisomie 8q	16	5%
t(14q32)	12	4%
trisomie 3q	9	3%

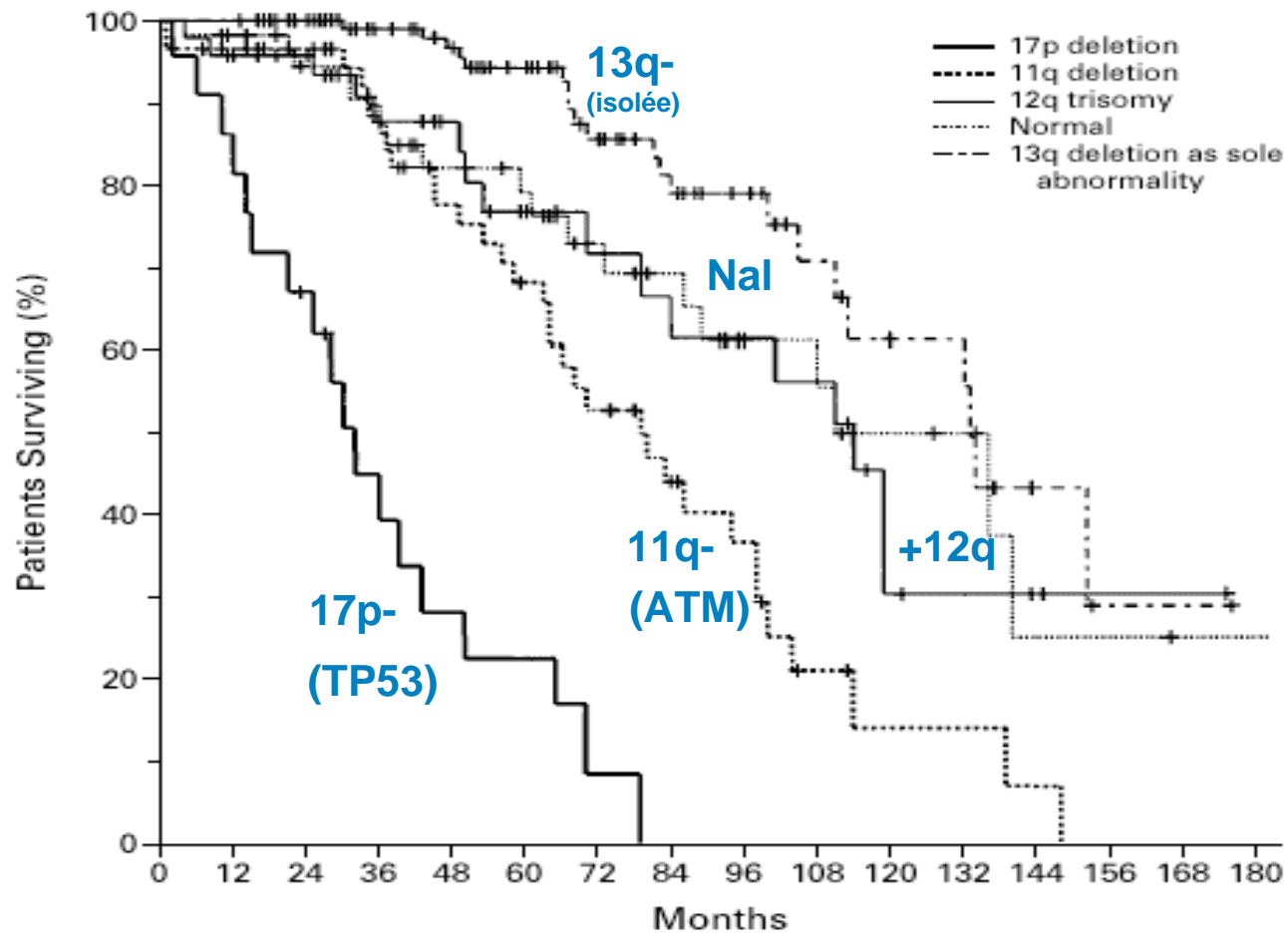
*délétion 13q isolée
dans 117 cas (36%)*





Anomalies cytogénétiques / FISH

Signification pronostique



Döhner et al., NEJM 2000, 343 : 1910





Anomalies cytogénétiques / FISH

Stade, âge et phase évolutive

	13q-	11q-	+12	17p-	unmut	mut
Ulm	36%	18%	16%	7%	56%	44%
CLL1 st A	40%	10%	13%	4%	39%	61%
CLL4 st B & C, 1 ^{ère} ligne	34%	21%	11%	3%	69%	31%
CLL3 st B & C (> 60 ans)	27%	22%	12%	3%	68%	32%
CLL2H réfract. fluda	14%	32%	18%	27%	81%	19%



incidence del(17p)

≈ 4 à 7% patients non traités

≈ 25% malades réfractaires



Statut mutationnel VH / pronostic

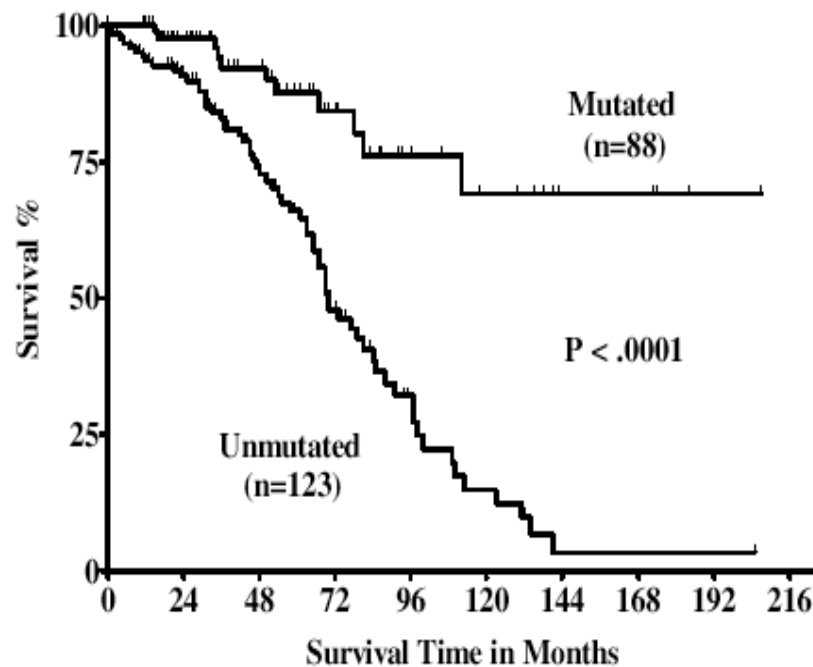


Figure 1. Prognostic significance of the IgV mutation status in 211 chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients.

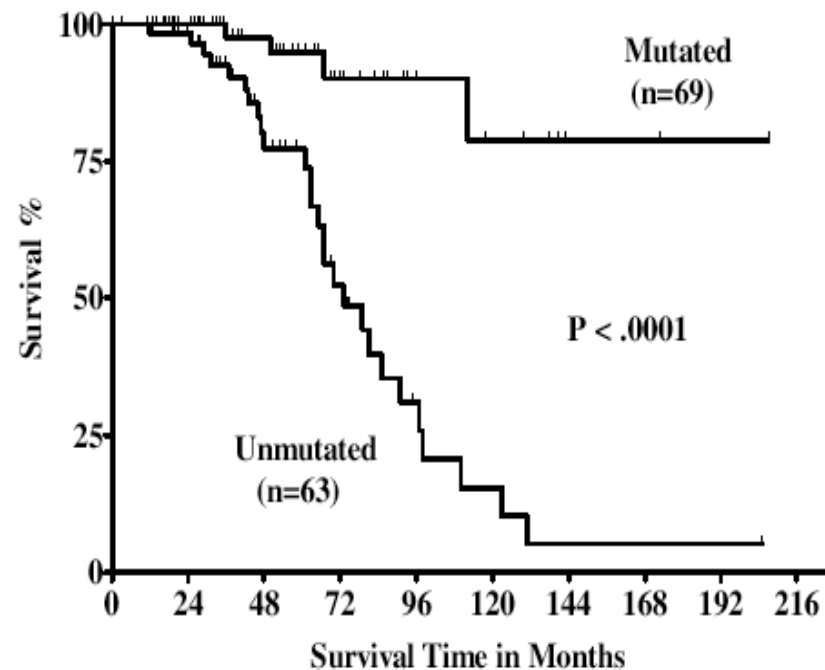


Figure 2. Prognostic significance of the IgV mutation status in 131 chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients with Binet stage A disease.

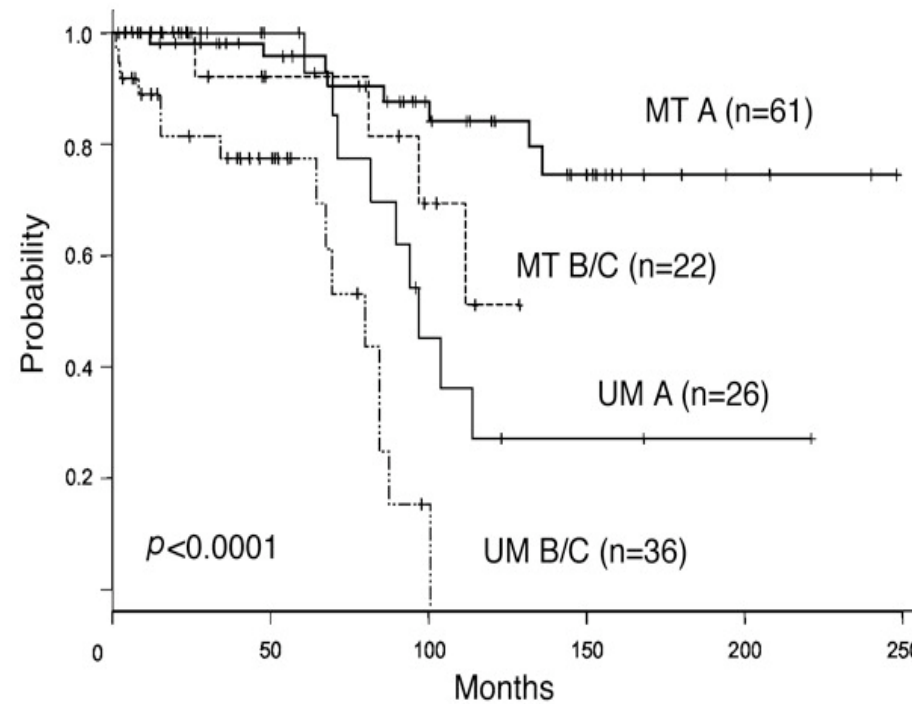




Stade et statut VH

Deux facteurs pronostiques indépendants

survie globale



MT = muté (homologie < 98%)

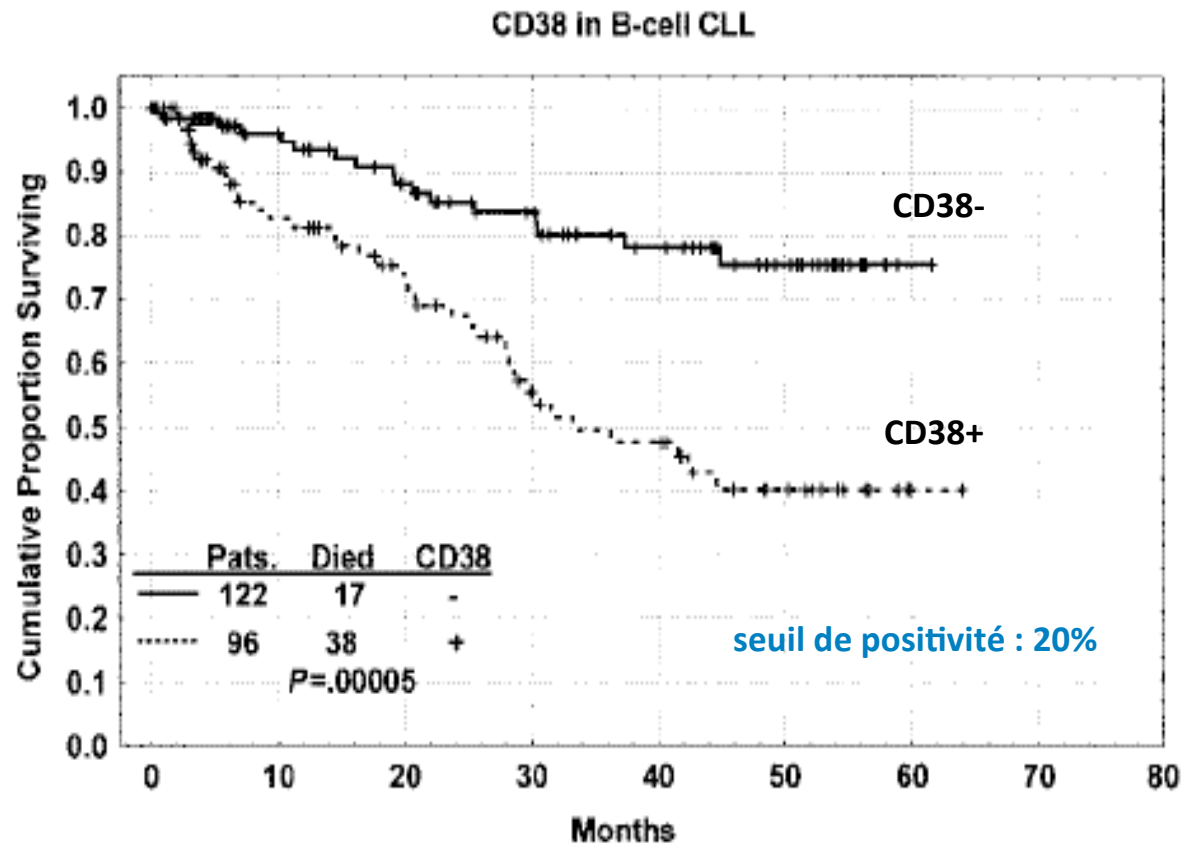
UM = non muté (homologie \geq 98%)





Expression du CD38 / pronostic

survie globale cohorte entière (n = 218)



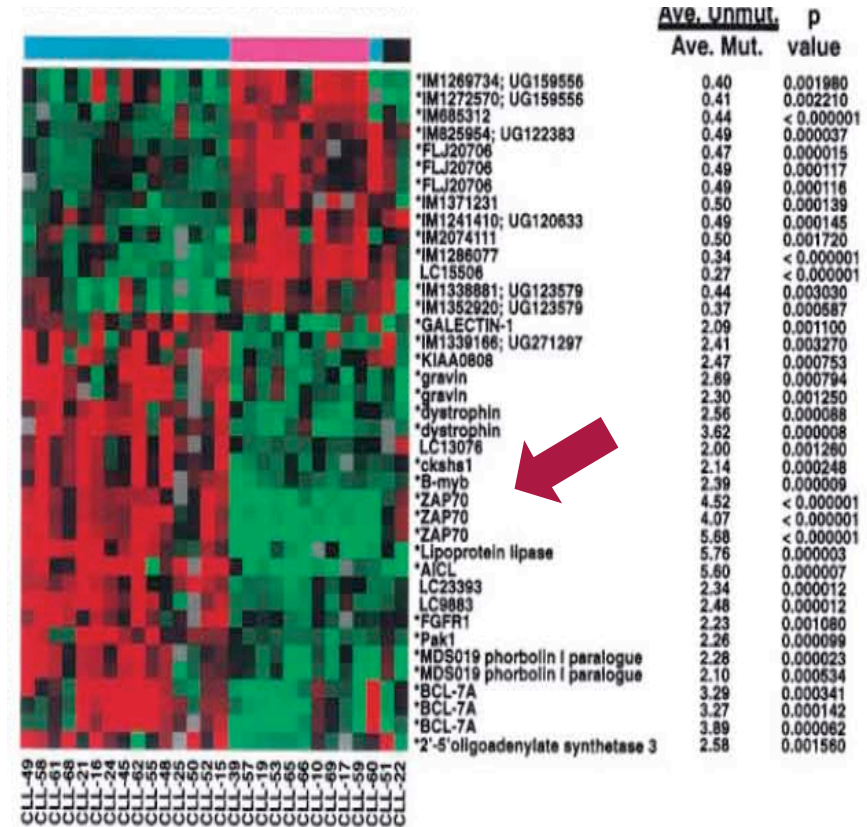
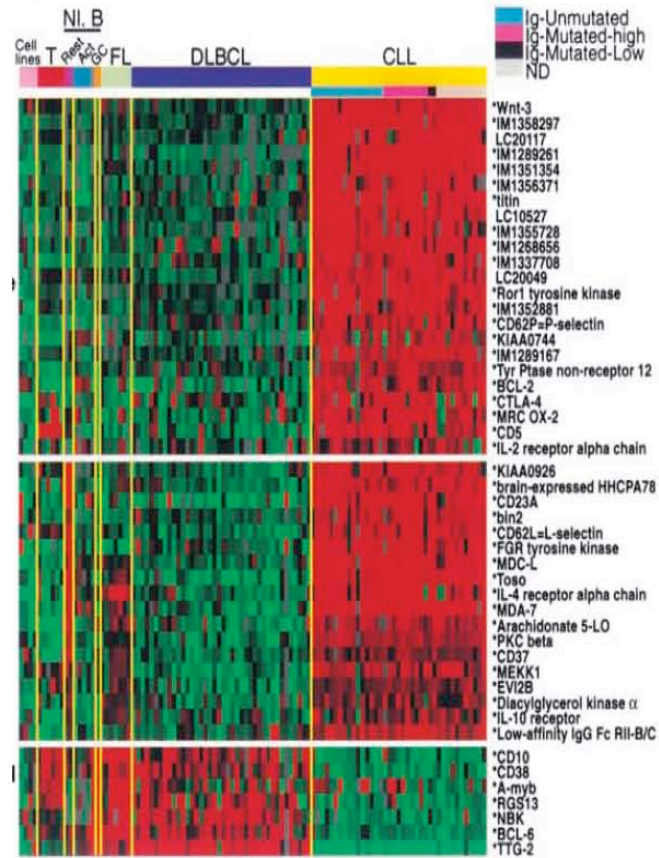
Ibrahim et al. Blood 2001, 98 : 181-86





Données transcriptomiques / ZAP70

analyse supervisée / état mutationnel VH



Rosenwald et al., J Exp Med 2001, 194, 1639-47





Expression de ZAP70 / pronostic

auteur	N pts	cut-off	prédictif sur	concordance avec statut VH
Crespo (NEJM 2003)	58	20%	OS	95%
Orchard (Lancet 2004)	167	10%	OS	92%
Rassenti (NEJM 2004)	307	20%	TFS	77%

Mais :

- **difficultés de standardisation**
- **résultats non reproductibles d'une équipe à l'autre**
- **quel anticorps utiliser : quel clone ?, Ac conjugué ou non ?**
- **expression des résultats ?**

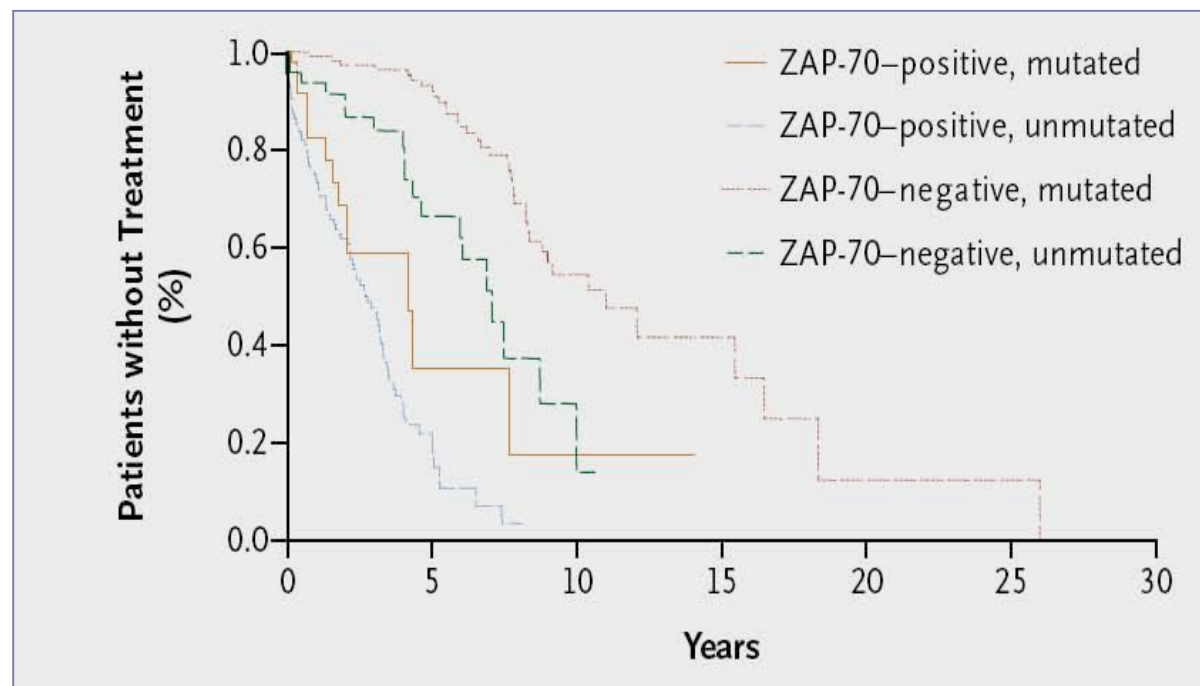




Expression de ZAP / pronostic (intervalle libre sans traitement)

N = 307 pts

	n	ZAP(-)	ZAP(+)
VH muté (< 96%)	129	114 (88%)	15 (12%)
VH non muté ($\geq 98\%$)	164	47 (29%)	117 (71%)
VH 96-97% homologie	14	5 (36%)	9 (64%)



Rassenti et al., *N Engl J Med* 2004, 351: 893-901





Statut VH et expression de ZAP70 / discordances

Etude de ZAP 70 dans une cohorte de 148 pts (Ulm) (cytométrie en flux, Ac non conjugué, seuil de positivité 20%)

- séquence VH disponible : 133 pts (seuil homologie 98%)
- cytogénétique (FISH) disponible : 144 pts

**concordance ZAP 70 et mutation sur
l'ensemble de la cohorte = 75%**

	muté	non muté
ZAP +	11%	
ZAP -		14%

concordance ZAP 70 et mutation variable en fonction répertoire et FISH

V3-21	17p-	11q-	13q- isolée (avec V3-21)	13q- isolée (V3-21 exclus)	FISH normal
46%	69%	58%	75%	84%	90%
<i>souvent ZAP(+) bien que muté</i>		<i>souvent ZAP (-) bien que non muté</i>			





Statut VH, cytogénétique et expression de ZAP70

survie sans traitement

Paramètre	hazard ratio	95% CI	P	hazard ratio	95% CI	P
VH non muté	2.9	1.6 à 5.6	< .001	-	-	-
VH3-21	2.6	1.1 à 6.3	.035	-	-	-
del 17p ou 11q	1.7	1.1 à 2.8	.027	2.2	1.4 à 3.4	< .001
ZAP 70(+)	1.2	0.7 à 2.0	.48 *	1.9	1.2 à 3.9	.006 #

* statut VH inclus dans l'étude multiparamétrique

statut VH non inclus sans l'étude multiparamétrique





Cytogénétique :

FISH mais aussi... le caryotype

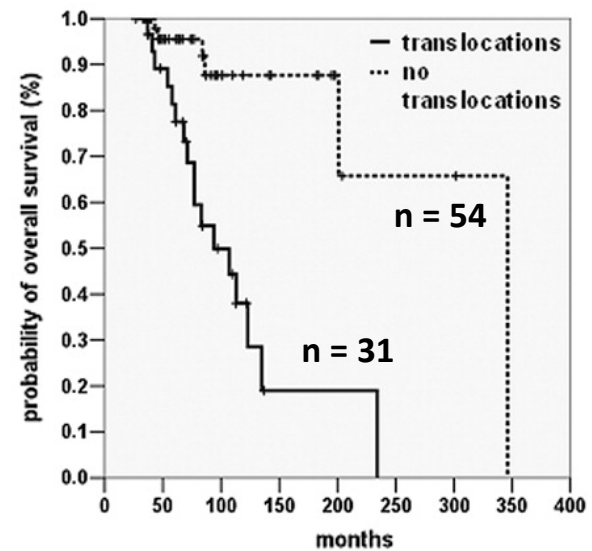
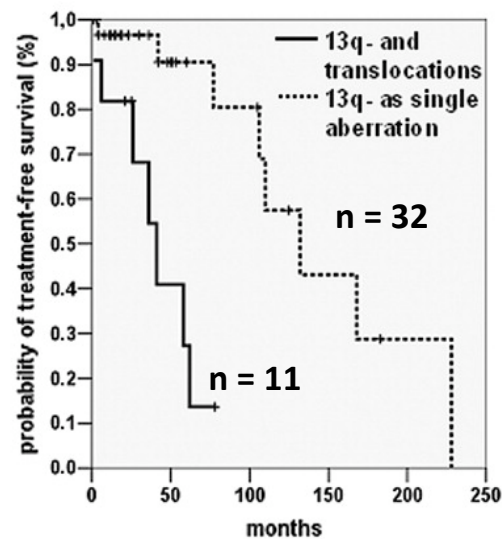
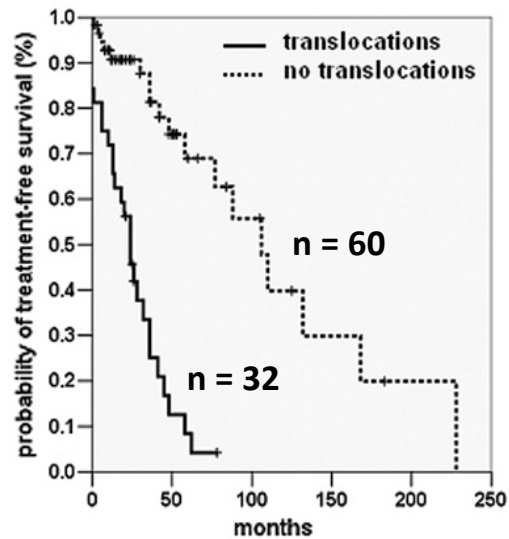




Anomalies cytogénétiques

Caryotype : translocations

- CD40 ligand, olidodeoxynucléotides et IL2 : obtention de métaphases dans > 85% des cas
- Translocations observées dans 34% des cas : points de cassures au niveau de régions souvent délétées dans la LLC : 13q14, 11(q21q25) et 14q32, ou impliquées dans d'autres types d'hémopathies lymphoïdes : 1(p32p36), 1(q21q25), 2(p11p13), 6(p11p12), 6(p21p25) et 18q21



Mayr et al., Blood 2006, 107 : 742-51





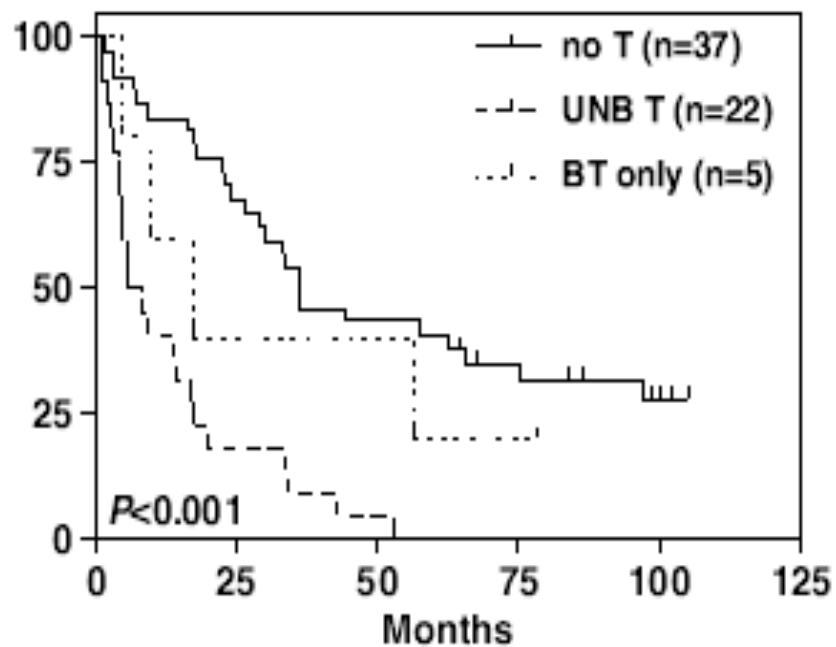
Anomalies cytogénétiques

Caryotype : translocations

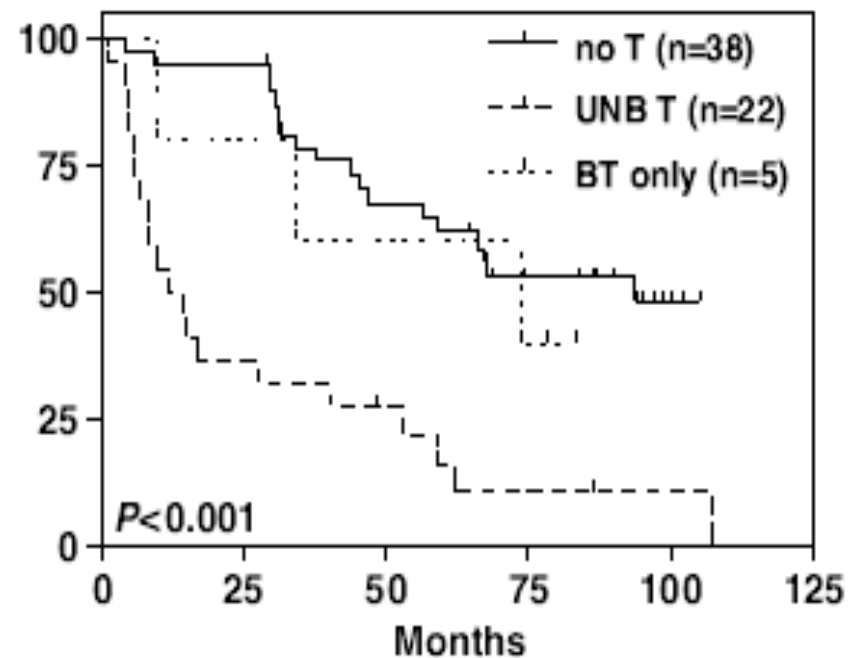
65 patients / antérieurement non traités 31 / déjà traités 34
traitement par cladribine

survie en fonction de l'existence de translocations (non équilibrées/équilibrées)

survie sans nouveau traitement



survie globale



Van Den Neste et al., *Leukemia* 2007, 21 : 1715-22





LLC / intérêt du caryotype

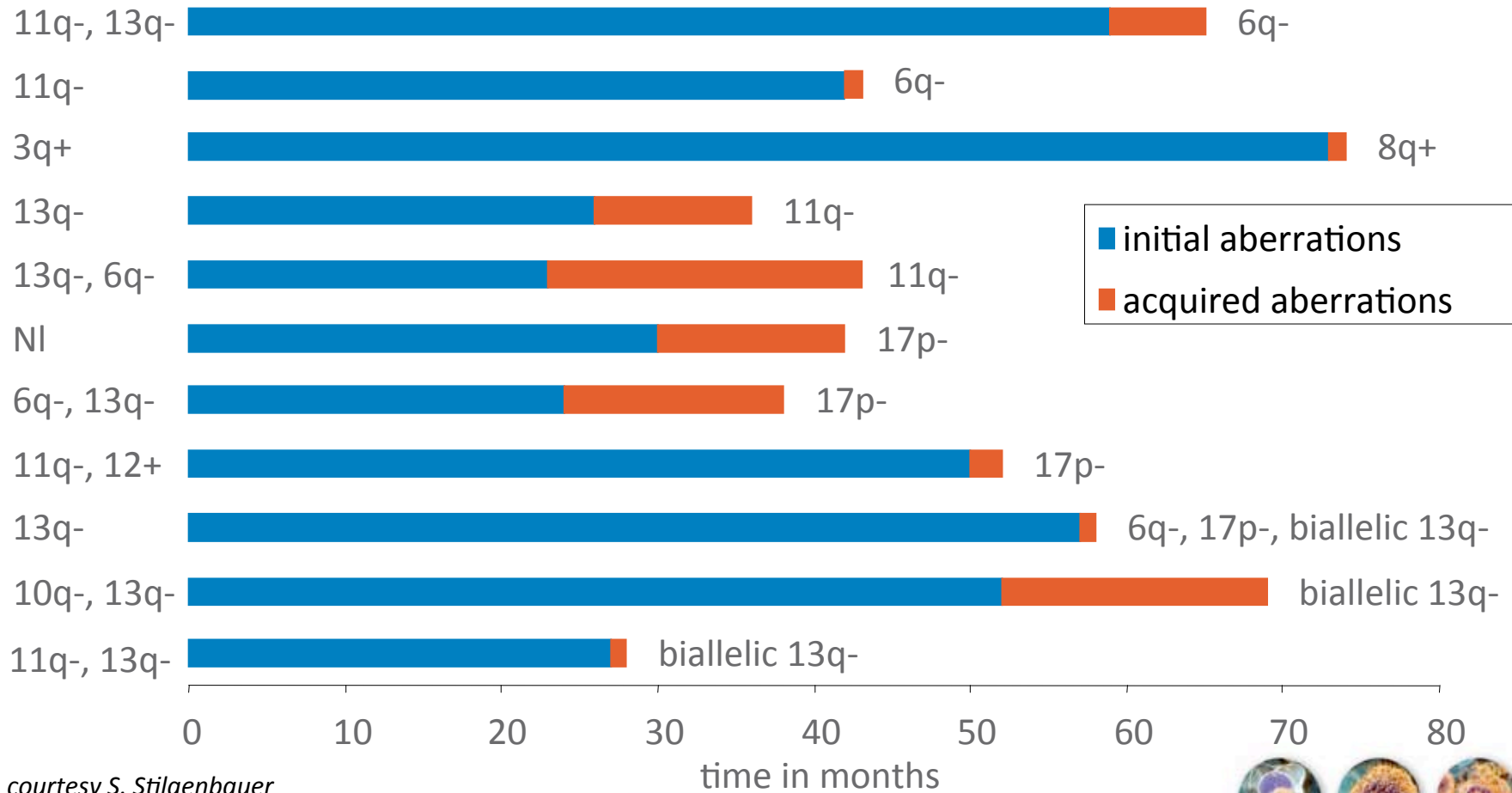
- caryotype en bandes détecte 1.7 fois plus d'anomalies que la FISH
- délétion 13q par FISH : 3 sous-groupes
 - del(13q) isolée
 - del(13q) avec anomalies supplémentaires
 - del(13q) liée à une translocation réciproque
- caryotype complexe corrélé avec VH non muté et expression du CD38
- fréquence élevée de caryotypes complexes chez les patients avec del(17p)
- gain du chromosome 2p : nouvelle anomalie récurrente (2.7%) associée avec caractéristiques défavorables (transcriptome : surexpression de 10 gènes impliqués dans réparation et l'apoptose)





Evolution clonale

cohorte de 64 patients / évolution clonale : 11 patients

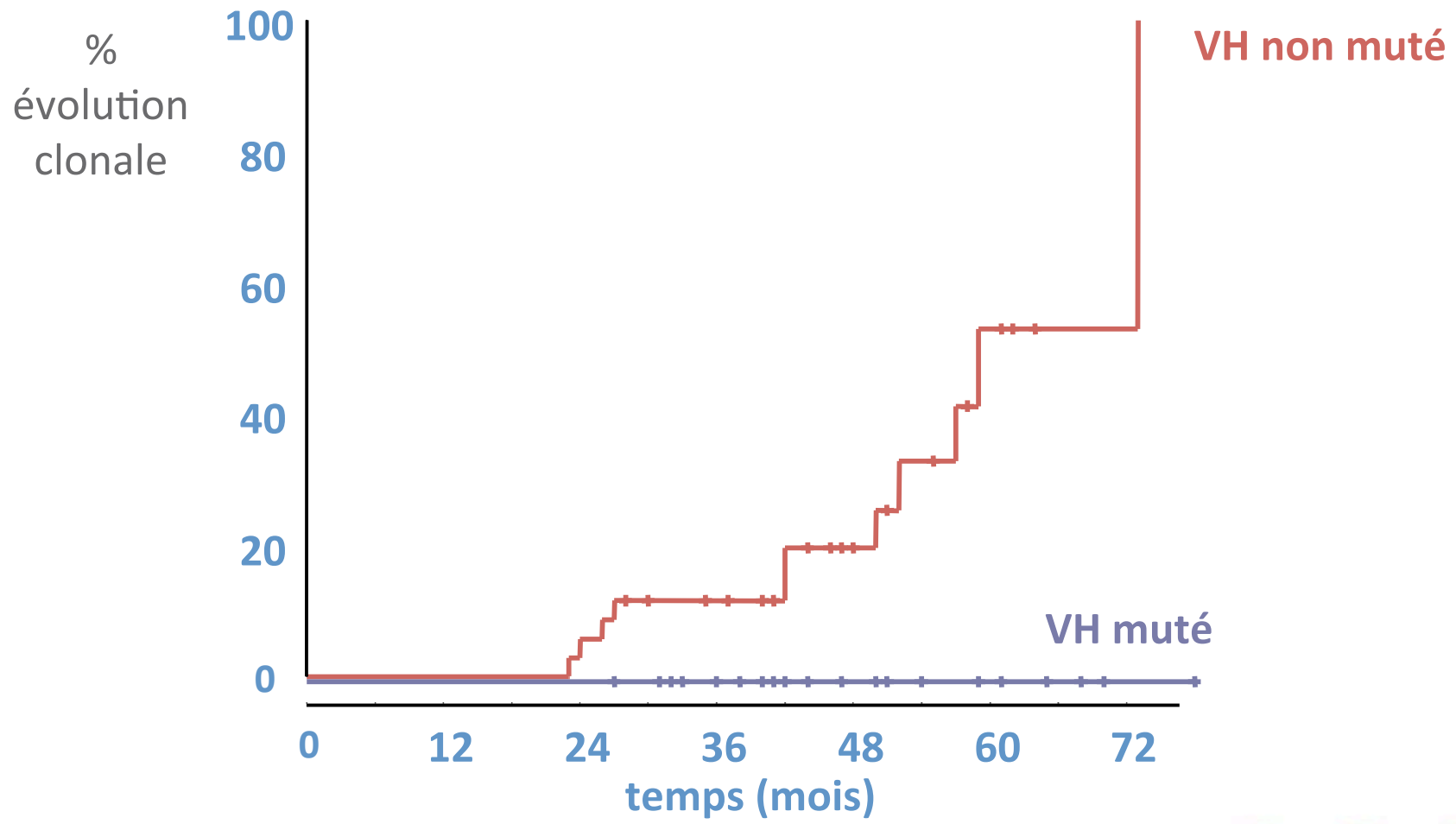


courtesy S. Stilgenbauer





LLC / évolution clonale



courtesy S. Stilgenbauer





Mutations de TP53 chez les patients avec une délétion 17p

- 111 patients avec del(17p)
- screening par DHPLC (exons 2-11) et séquençage
- mutation retrouvée dans 93/111 cas (83%)
- principalement domaine DNA binding de TP53 (exons 5 à 8 : 86%)
- présence de mutation même quand % cellules avec del(17p) < 20%
- **inactivation de p53 responsable de la chimiorésistance chez les patients avec délétion 17p**
- **quel(s) mécanisme(s) d'inactivation de p53 en l'absence de mutation?**





Facteurs prédictifs de la réponse à la chimiothérapie

(études prospectives)





1^{ère} ligne / facteurs prédictifs de la réponse GCLLSG CLL4 (F vs FC)

375 pts inclus / cytogénétique (FISH) : 307 pts et statut VH : 280 pts

	11q-	20.3%	oui	VH muté	33.9%
	14q-	6.1%		VH non muté	66.1%
ORR	17p-	53.8%		muté	<i>p</i> = 0.001
PFS	11q-	17.4 mo	26.8 mo		<i>p</i> = 0.044
	14q-	14.5 mo	24.5 mo		<i>p</i> = 0.018
	17p-	11 mo	24.1 mo		<i>p</i> = 0.002
OS	17p-	15.9 mo	NR		<i>p</i> < 0.001

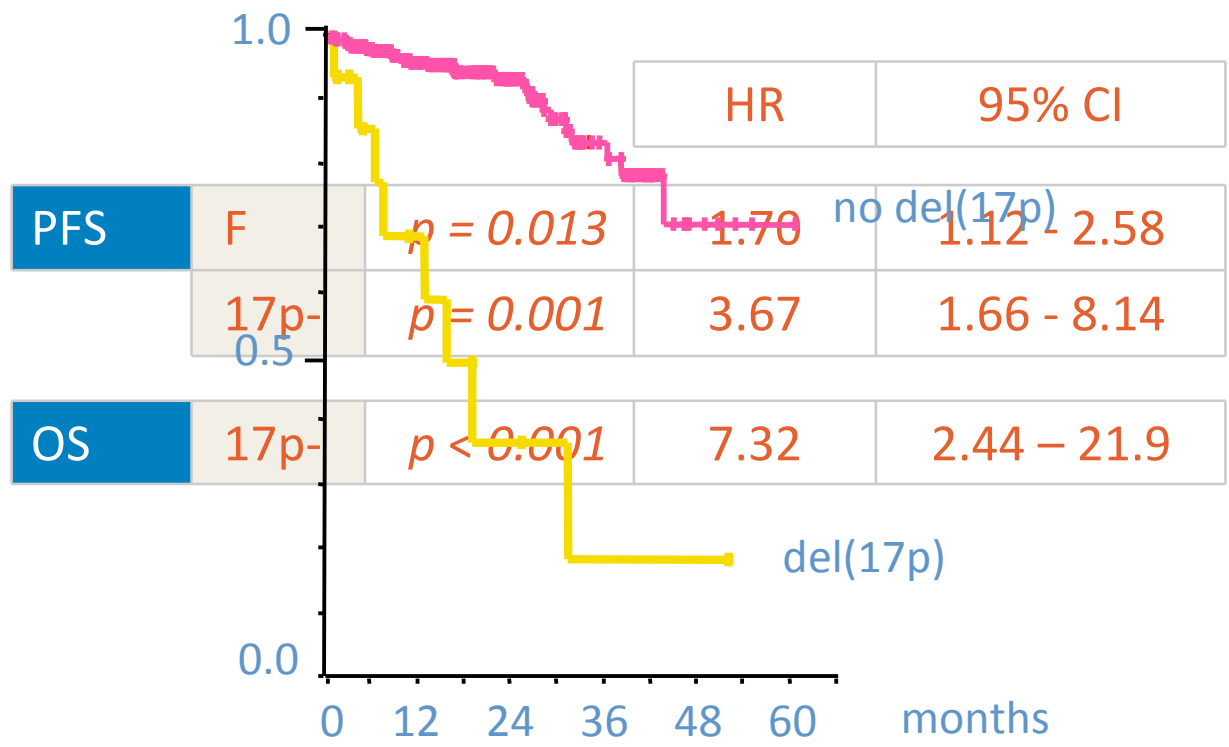
⇒ statut gènes VH non prédictif de la réponse ou de la PFS





1^{ère} ligne / facteurs prédictifs de la réponse GCLLSG CLL4 (F vs FC)

paramètres : F vs FC, statut VH, cytogénétique (13q, 11q et 17p)



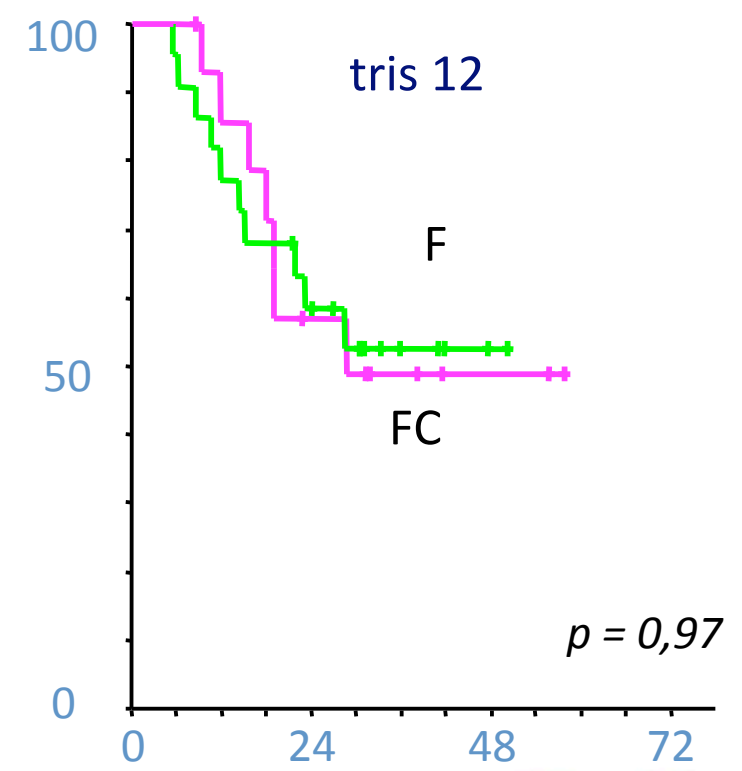
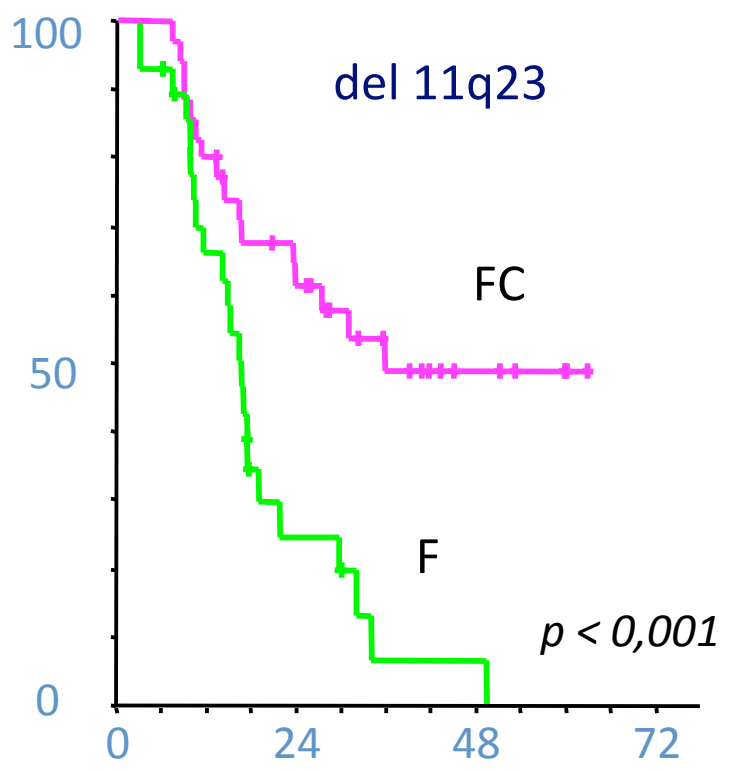
Stilgenbauer S et al., ASH 2005 : abstr # 715





1^{ère} ligne / facteurs prédictifs de la réponse GCLLSG CLL4 (F vs FC)

survie sans progression en fonction du bras de traitement (F vs FC)



Courtesy S. Stilgenbauer





1^{ère} ligne / facteurs prédictifs de la réponse UK LRF CLL4 (CLB vs F vs FC)

PFS : 3 groupes pronostiques en fonction statut VH et cytogénétique

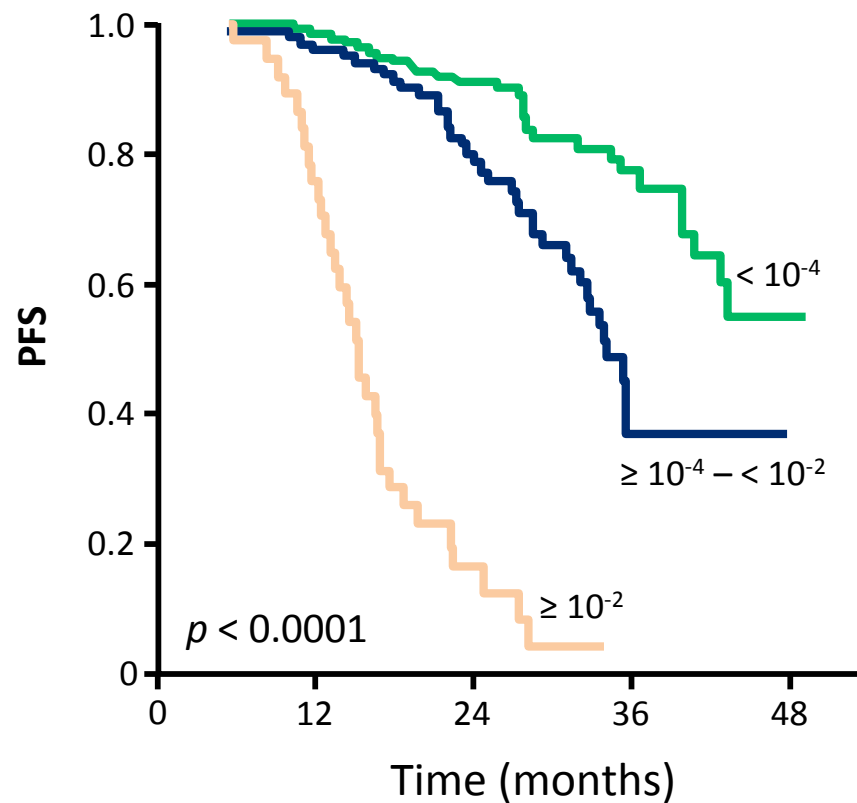
groupe de risque	définition	progression ou décès	PFS à 3 ans
bon	VH muté (sauf VH3-21)	79/161	55 %
standard	VH non muté <i>ou</i> del(11q) <i>ou</i> VH3-21	208/292	24.7 %
mauvais	del(17p)	28/33	0 %





1^{ère} ligne / GCLLSG CLL8 study / FCR vs FC maladie résiduelle

Valeur prédictive de la MDR (sang) + 2 mois après traitement
sur la durée de la survie sans progression (ensemble de la cohorte)



Cut-off	n	Events
$< 10^{-4}$	139	29
$\ge 10^{-4} - < 10^{-2}$	103	38
$\ge 10^{-2}$	38	33

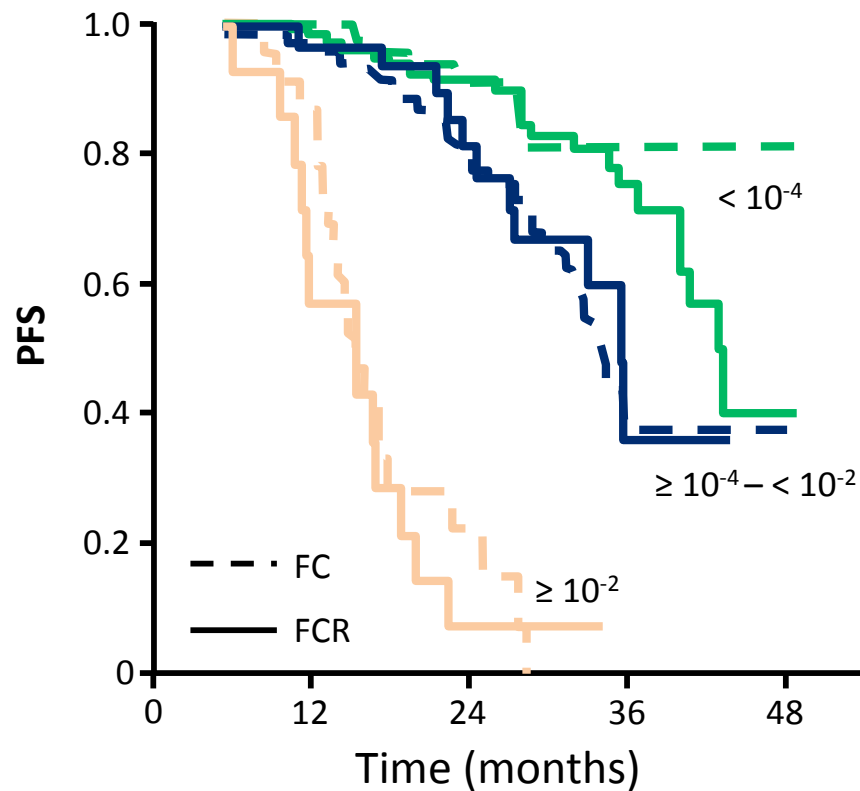
Boettcher et al., ASH 2008 : abstr # 326





1^{ère} ligne / GCLLSG CLL8 study / FCR vs FC maladie résiduelle

Valeur prédictive de la MDR (sang)
FCR vs FC



FC

Cut-off	n	Events
$< 10^{-4}$	49	7
$\ge 10^{-4} - < 10^{-2}$	72	27
$\ge 10^{-2}$	24	20

RFC

Cut-off	n	Events
$< 10^{-4}$	90	22
$\ge 10^{-4} - < 10^{-2}$	31	11
$\ge 10^{-2}$	14	13

Boettcher et al., ASH 2008 : abstr # 326





Facteurs pronostiques / résumé

bon pronostic

- **stade A**
- **pas de prolifération**
 - temps doublement lymphocytes long
 - thymidine kinase sérique basse
- **CD38 (-)**
- **présence de mutations somatiques**
- **ZAP 70 (-)**
- **del(13q) ou absence d'anomalie cytogénétique**

mauvais pronostic

- **stades B ou C**
- **signes de prolifération**
 - temps doublement lymphocytes court
 - thymidine kinase sérique élevée
- **CD38 (+)**
- **absence de mutations somatiques**
- **ZAP 70 (+)**
- **del(11q), del(17p), trisomie 12 ou autres anomalies cytogénétiques rares ou caryotype complexe**





Facteurs pronostiques / résumé

- **corrélations (non absolues) entre statut mutationnel des gènes VH, cytogénétique, expression de ZAP et expression du CD38**
- **paramètres prédictifs de la survie sans progression :**
 - temps de doublement des lymphocytes sanguins
 - taux sérique de thymidine kinase (TK)
- **paramètres prédictifs de la survie globale :**
 - statut mutationnel VH
 - cytogénétique
- **paramètres prédictifs de la réponse au traitement :**
 - cytogénétique : del(17p) +++, del(11q) +
 - statut mutationnel VH ?



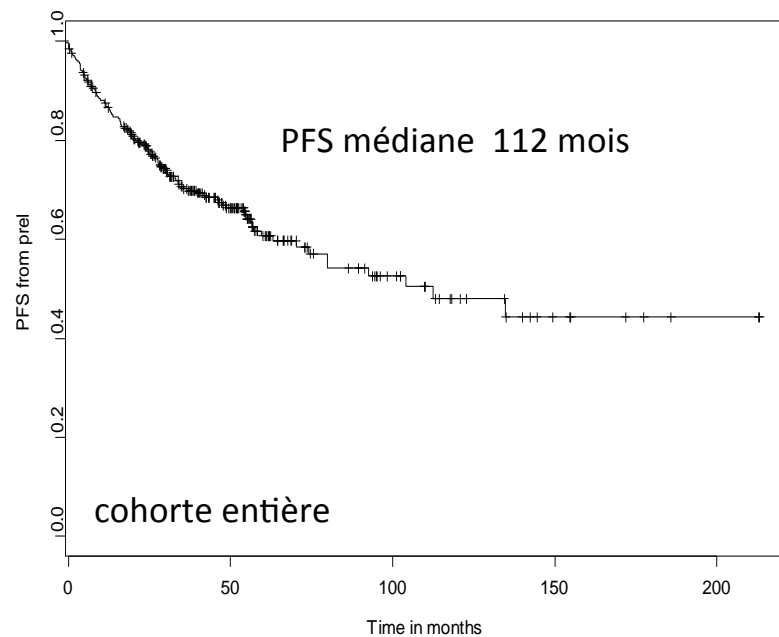
Stades A / index pronostique (à valider)

339 pts, LLC de stade A avec score de Matutes ≥ 4

Variables étudiées : lymphocytose, statut mutationnel VH, ZAP70, sTK, CD38, cytogénétique (FISH) et B2M (190 pts, 56%)

Endpoint : PFS (passage au stade B ou C)

Suivi médian : 56.6 mois



analyse monoparamétrique

■ Lymphocytes (30 G/l)	p<10 ⁻⁴
■ CD38 expression seuil 7%)	p<10 ⁻⁴
■ $\beta 2$ M (2.5 mg/l)	p<10 ⁻⁴
■ sTK (10 UI)	p<10 ⁻⁴
■ statut VH	p<10 ⁻⁴
■ ZAP70	p<10 ⁻⁴
■ del(11q)	p<10 ⁻⁴
■ tri 12	p=0.01
■ del(17p)	p=0.01
■ del(13q), âge et sexe	NS

Letestu et al., IWCLL 2009





Stades A / index pronostique (à valider)

analyse multiparamétrique

4 facteurs indépendants prédictifs de la PFS

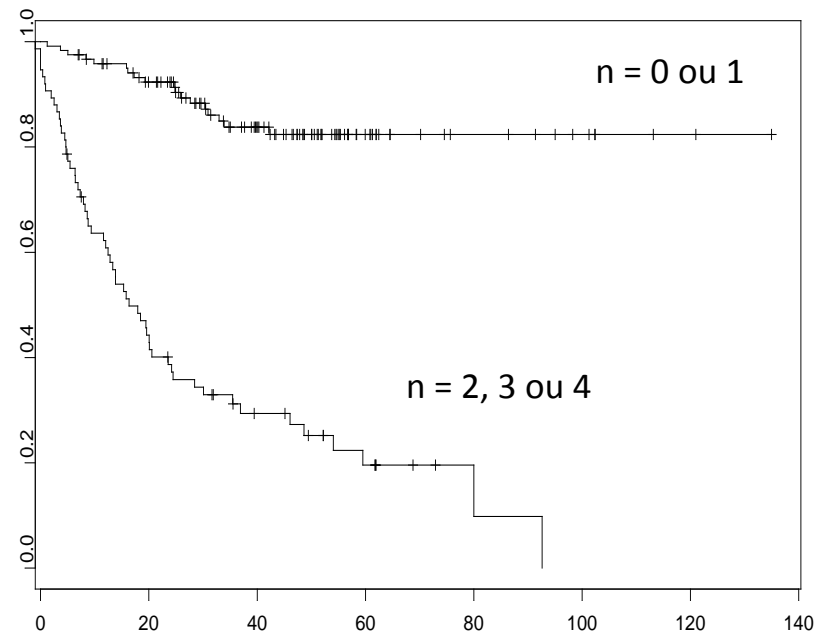
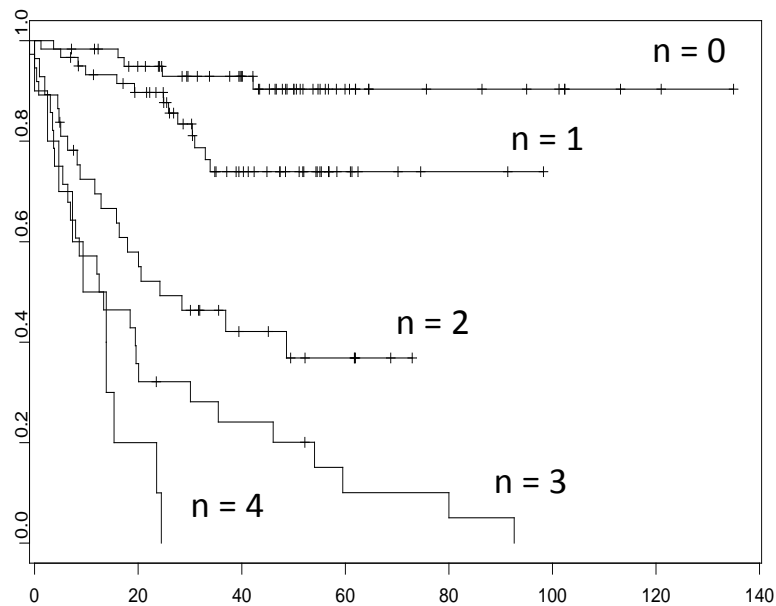
- sTK	HR = 3.07,	p=0.00015
- CD38	HR = 2.20,	p=0.01
- lymphocytose	HR = 2.1	p=0.0001
- b2 microglobuline	HR = 3.49	p=0.0005





Stades A / index pronostique (à valider)

Paramètres : lymphocytose, sTK, B2M et CD38



Importance ++ des marqueurs de prolifération pour prédire la progression des stades A

Letestu et al., IWCLL 2009





Recommandations SFH 2009

- **stades A**
 - décision de traitement basée sur la clinique
 - pas d'exploration pronostique « sophistiquée » et coûteuse
- **avant traitement (1^{ère} ligne)**
 - en dehors d'un essai clinique : del(17p) et del(11q) par FISH
- **rechutes**
 - del(17p) par FISH avant chaque ligne de traitement

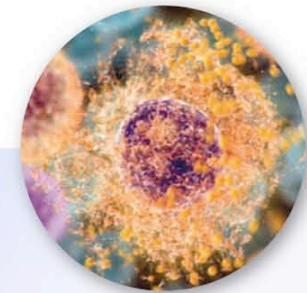
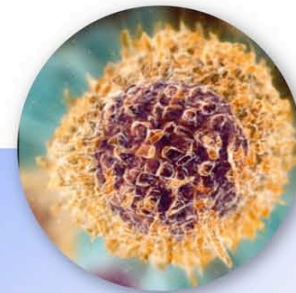
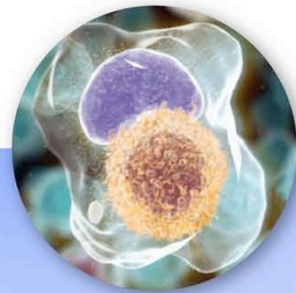




Les Ateliers Lymphomes et LLC

22 – 24 octobre 2009

Le Moulin de la Forge – Le Vaumain (60)



Sous le patronage de



En collaboration avec



En partenariat avec



Avec le soutien institutionnel de

