

UNIVERSITE DE REIMS
FACULTE DE MEDECINE

ANNEE 2011

N°

THESE
DE
DOCTORAT EN MEDECINE
(Diplôme d'Etat)

PAR

QUINQUENEL Anne
Née le 24 septembre 1981 à Reims

Présentée et soutenue publiquement le 14 octobre 2011

**ANEMIE HEMOLYTIQUE AUTO-IMMUNE ASSOCIEE A LA LEUCEMIE
LYMPHOIDE CHRONIQUE : ETUDE RETROSPECTIVE ET MULTICENTRIQUE
DE 48 OBSERVATIONS.**

PRESIDENT : Monsieur le Professeur Alain DELMER

ABBREVIATIONS

AHAI : anémie hémolytique auto-immune

ATM : « Ataxia Telangiectasia Mutated »

Bcl-2 : « B-Cell lymphoma 2 »

BCR : récepteur des cellules B à l'antigène

CAI : cytopénies auto-immunes

C3d : fraction C3d du complément

CD : cluster de différenciation

ChOP LLC : chimiothérapie associant cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et prednisone

CTC : corticoïdes

del : délétion

DR : durée de réponse

EAI : érythroblastopénie auto-immune

F : fludarabine

FC : chimiothérapie comportant fludarabine et cyclophosphamide

FCR : chimiothérapie comportant fludarabine, cyclophosphamide et rituximab

FISH : hybridation in-situ en fluorescence, « Fluorescent In-Situ Hybridization »

Hb : taux d'hémoglobine

IgG / IgM : Immunoglobuline de type G / de type M

IgS : Immunoglobuline de Surface

IgVH : chaîne lourde des immunoglobulines

IL : interleukine

IS : immunosuppresseurs

IV : intraveineux

IWCLL : International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia

LDH : Lactate Deshydrogenase

LLC : Leucémie Lymphoïde Chronique

mg/kg/j : milligrammes par kilogramme et par jour

mg/m² : milligrammes par mètre carré de surface corporelle

NLC : cellules « Nurse-like »

PNN : polynucléaires neutrophiles

po : per os

PTI : Purpura Thrombopénique Immunologique

R : rituximab

RC : réponse complète

RCC : réponse clinique complète

RCD : chimiothérapie comportant rituximab, cyclophosphamide et dexaméthasone

R-ChOP LLC : chimiothérapie de type CHOP LLC associée au rituximab

RP : réponse partielle

SFH : Société Française d'Hématologie

Treg : lymphocytes T régulateurs

tri : trisomie

VSN : valeur supérieure de la normale

Zap70 : « Zeta-chain associated protein kinase (70kDa) »

INTRODUCTION

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la forme de leucémie la plus fréquente dans les pays occidentaux. Elle affecte principalement les sujets âgés de plus de 60 ans. Environ 5% des patients atteints de leucémie lymphoïde chronique présentent un épisode dysimmunitaire au cours de l'évolution de leur maladie et l'hémopathie lymphoïde peut parfois être découverte à l'occasion de ces manifestations auto-immunes.

Les cytopénies auto-immunes (anémie hémolytique auto-immune, purpura thrombopénique immunologique, syndrome d'Evans et érythroblastopénie auto-immune) sont les manifestations dysimmunitaires les plus fréquentes, mais de rares cas d'atteintes cutanées, rénales ou d'angioœdème acquis ont été décrits.

La prise en charge des anémies hémolytiques auto-immunes associées à la LLC n'est pas consensuelle ; les recommandations actuelles émanent d'avis d'experts et sont parfois contradictoires.

L'objectif de ce travail était de faire le point sur les connaissances actuelles concernant l'anémie hémolytique auto-immune associée à la LLC, puis de rapporter des observations issues de 4 centres (Bobigny/Bondy, Lyon, Nancy et Reims). L'analyse de ces données devait permettre de définir les facteurs prédictifs de la survenue d'anémie hémolytique auto-immune, de comparer l'efficacité et la tolérance des différents traitements mis en œuvre afin de dégager une attitude thérapeutique la plus adaptée possible.

GENERALITES SUR LA LEUCEMIE LYMPHOIDE CHRONIQUE

1. Définition et épidémiologie

La leucémie lymphoïde (LLC) est la leucémie de l'adulte la plus fréquente dans les pays occidentaux et représente environ 30% des leucémies de l'adulte [91]. Sa découverte est maintenant le plus souvent fortuite, après un hémogramme de routine. Plus rarement, la LLC peut être diagnostiquée à l'occasion d'une asthénie, de la constatation d'adénopathies superficielles, d'une splénomégalie, ou lors de la survenue d'infections à répétition ou d'épisodes dysimmunitaires. Elle se caractérise par l'accumulation clonale de petits lymphocytes matures CD5+ dans le sang, la moelle osseuse et les organes lymphoïdes secondaires.

L'incidence de la LLC est difficile à évaluer précisément [86, 187]. Elle varie de 3 à 8 nouveaux cas pour 100 000 habitants et par an dans les différentes séries européennes ou nord-américaines [54, 75, 161, 187]. Cette incidence est beaucoup plus faible en Asie et en Afrique [49, 65]. La LLC affecte principalement les sujets âgés. L'âge médian au diagnostic est d'environ 70 ans [49, 75, 187], et 70% des patients ont plus de 65 ans. Une prédominance masculine (1,5 à 2 hommes pour une femme) est retrouvée de façon constante [49, 54]. Aucun facteur environnemental n'a été mis en évidence, mais une susceptibilité génétique semble très probable. En effet, le risque relatif de développement d'une hémopathie maligne lymphoïde, LLC ou lymphome, varie de 3 à 7,5 chez les apparentés au premier degré de patients atteints de LLC [72, 181].

2. Diagnostic

Le diagnostic de LLC est simple et repose sur la constatation d'une hyperlymphocytose sanguine ayant un profil cytologique et immunophénotypique caractéristique. Le seuil à partir duquel le diagnostic de LLC peut être porté a été redéfini en 2008 par l'International

Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia (IWCLL), à savoir 5.10^9 lymphocytes B monoclonaux par litre. Une nouvelle entité a également été décrite : la lymphocytose B monoclonale ou MBL. Elle correspond à une hyperlymphocytose monoclonale B inférieure à $5.10^9/L$ asymptomatique (pas d'adénopathies, pas d'hépatomégalie ni de splénomégalie, pas de cytopénies) [81].

Les cellules de LLC sont typiquement des petits lymphocytes matures, avec un cytoplasme réduit, un noyau régulier avec une chromatine mature et motée conférant un aspect fissuré, habituellement sans nucléole visible.

L'étude immunophénotypique des lymphocytes B sanguins par cytométrie en flux est indispensable au diagnostic et permet de différencier la LLC des autres syndromes lymphoprolifératifs. Elle retrouve un profil d'expression caractéristique de certains marqueurs membranaires et intracytoplasmiques. Les cellules de LLC expriment typiquement l'antigène CD5 (habituellement exprimé sur les lymphocytes T, absent dans la lignée lymphoïde B normale) associé à plusieurs marqueurs de la lignée B : CD19, CD20, CD22, CD23, CD79b, immunoglobuline de surface (IgS). L'antigène FMC7 est le plus souvent absent ou faiblement exprimé. Un système de score diagnostique reposant à la fois sur la présence et la densité des marqueurs a été proposé en 1994, complété en 1997 et fait toujours référence [122, 129]. Le profil d'expression des 5 marqueurs qui définissent le score RMH (Royal Marsden Hospital) également appelé score de Matutes est détaillé dans le tableau 1.

Tableau 1. Score de Matutes modifié par Moreau

Marqueur	1 point	0 point
CD5	Positif	Négatif
CD23	Positif	Négatif
FMC7	Négatif	Positif
CD22 et/ou CD79b	Négatif/expression faible	Expression moyenne/forte
IgS	Expression faible	Expression moyenne/forte

Dans l'étude de Matutes, 97% des LLC avaient un score supérieur à 3. Un score 4 ou 5, associé à une morphologie typique des lymphocytes sanguins, permet donc d'affirmer le diagnostic. Depuis l'avènement de la cytométrie en flux, l'étude de la moelle osseuse (aspiration ou biopsie) n'est plus nécessaire au diagnostic.

3. Physiopathologie

3.1. Origine de la cellule leucémique

En dépit de nombreux progrès cognitifs, l'origine de la cellule leucémique demeure incertaine [8, 18, 20, 29, 30, 70]. Plusieurs hypothèses ont été successivement discutées.

L'existence d'une sous-population lymphocytaire B CD5⁺ physiologique dans la zone du manteau des ganglions lymphatiques, pouvant être à l'origine de la production d'auto-anticorps, a fait évoquer la possibilité que les cellules B de LLC soient issues de la zone du manteau. Cependant, l'étude du récepteur des cellules B à l'antigène (BCR) et le profil phénotypique, de type « cellule B activée » des cellules de LLC sont autant d'arguments à l'encontre de cette hypothèse [41, 42, 63, 135].

La découverte d'hypermutations somatiques des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines (IgVH) chez environ 50% des patients a permis de définir deux profils de LLC : « muté » et « non muté ». Plusieurs auteurs ont émis l'hypothèse d'une origine cellulaire distincte selon le profil mutationnel des IgVH : pré-centre germinatif pour les LLC « non mutées », centre germinatif ou post-centre germinatif pour les LLC « mutées ». L'étude du transcriptome, révélant une homogénéité du profil d'expression génique entre les deux groupes, est en faveur d'une origine cellulaire unique [104, 152].

La population B normale à l'origine de la transformation leucémique doit exprimer une IgM de surface et pouvoir présenter un profil « muté » ou non des IgVH. La zone marginale est la partie externe de la pulpe blanche de la rate, et par analogie des zones dites « zone marginale-like » sont également retrouvées dans les organes lymphoïdes secondaires. Dans ces zones, on retrouve des lymphocytes B IgM⁺ IgD^{faible}, pouvant exprimer un profil muté ou non des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines secondairement à une stimulation antigénique T-dépendante ou T-indépendante. Si ces caractéristiques semblent communes aux cellules de LLC, cette sous-population de la zone marginale exprime un phénotype discordant CD5-,

CD23-, CD22+. Pour certains auteurs, l'expression membranaire de ces 3 marqueurs devrait être rapportée à un état d'activation et non à une signature de lignée, justifiant ainsi l'acquisition du phénotype CD5+, CD23+, CD22- par l'activation des cellules B de LLC [8, 20, 30, 70]. Néanmoins, cette dernière hypothèse n'est pas parfaitement satisfaisante.

3.2. Prolifération cellulaire, résistance à l'apoptose, rôle du microenvironnement

La LLC est habituellement considérée comme une pathologie peu proliférative. Dans le sang, peu de cellules sont engagées dans le cycle cellulaire. La progression de la maladie serait donc liée à une accumulation de lymphocytes ayant acquis une résistance à l'apoptose. *In vitro*, les cellules de LLC isolées ne se divisent pas et sont rapidement apoptotiques, rendant leur culture impossible plus de quelques jours. L'absence de survie en dehors de leur milieu habituel souligne l'importance du microenvironnement dans la physiopathologie de la LLC.

In vivo, les cellules de LLC présentent une résistance à l'apoptose, attribuée à l'hyperexpression de protéines anti-apoptotiques telles Bcl-2, Mcl-1 ou la survivine. A la différence d'autres syndromes lymphoprolifératifs, il n'existe aucun réarrangement du gène de Bcl-2 qui explique l'hyperexpression de la protéine. Celle-ci est probablement secondaire à des interactions entre les cellules leucémiques et leur microenvironnement.

Si en périphérie, les cellules de LLC sont bloquées au stade G0-G1 et semblent anergiques [18, 41], l'existence d'un pool prolifératif au niveau de la moelle osseuse et des organes lymphoïdes secondaires a été démontrée. Ces zones de prolifération sont appelées pseudo-follicules et sont riches en lymphocytes T CD3+ CD4+ exprimant le CD40 ligant (CD40L ou CD154) ainsi qu'en cellules stromales. Certaines cellules stromales dérivées de monocytes sont nommées « Nurse-like cells ou NLC » et expriment notamment le CD31. Dans ces pseudo-follicules, les cellules leucémiques, via leur récepteur CD40, interagissent avec le CD154 exprimé par les lymphocytes T. Les cellules de LLC expriment également le récepteur CD38 qui interagit avec le CD31 exprimé par les NLC. Ces différentes interactions induisent l'hyperexpression de Bcl-2, Mcl-1 et de survivine, ainsi que la prolifération cellulaire. L'environnement cytokinique immunomodulateur (sécrétion d'IL6, d'IL10 et de TNF par les cellules leucémiques et d'IL4 par les lymphocytes T) contribue à l'inhibition de l'apoptose et à l'atténuation de la réponse immunitaire anti-tumorale, facilitant ainsi l'expansion tumorale [8, 19].

Une autre explication possible à l'hyperexpression de Bcl-2 a été récemment évoquée. Deux travaux ont mis en évidence le rôle de deux micro-ARN dans l'hyperexpression de la protéine Bcl-2 : mir-15a et mir-16-1, situés dans le locus 13q14. Ces deux micro-ARN régulent négativement l'expression de Bcl-2. Le locus 13q14.3 est délété dans environ 50% des cas de LLC, et cette délétion empêcherait donc la régulation post-transcriptionnelle négative de Bcl-2 [21, 32].

4. Facteurs pronostiques

L'évolution de la LLC est très variable. Certains patients présentent une forme non évolutive de la maladie et ont une espérance de vie proche de la normale sans aucun traitement tandis que d'autres décèdent rapidement en dépit de traitements intensifs. L'identification de facteurs pronostiques permettant de repérer les patients à risque d'évolution rapide est donc primordiale afin d'adapter la prise en charge.

4.1. Paramètres anatomo-cliniques

Les premières classifications pronostiques ont été proposées par Rai en 1975 [144] et Binet en 1981 [11]. Elles reposent sur les données de l'examen clinique (présence d'adénopathies, d'une hépatomégalie ou d'une splénomégalie) et de l'hémogramme (hyperlymphocytose, anémie, thrombopénie). Elles sont toujours d'actualité dans la pratique quotidienne et les essais cliniques, et sont détaillées dans les tableaux 2 et 3.

La médiane de survie des patients de pronostic intermédiaire ou défavorable décrite dans ces deux tableaux correspond à celle rapportée par Rai et Binet respectivement en 1975 et 1981. Depuis l'avènement de l'immuno-chimiothérapie, la survie de ces patients est nettement améliorée.

Tableau 2. Classification anatomo-clinique de Rai [144]

		Critères de définition	Patients (%)	Survie médiane (mois)
Bon pronostic (0)	Stade 0	Lymphocytose $> 5.10^9/L$	31	> 150
	Stade I	Lymphocytose + adénopathie(s)	35	101
Pronostic intermédiaire (I+II)	Stade II	Lymphocytose + hépato ou splénomégalie +/- adénopathies	26	71
	Stade III	Lymphocytose + anémie (Hb < 110 g/L) +/- adénopathies et organomégalies	6	19
Mauvais pronostic (III+IV)	Stade IV	Lymphocytose + thrombopénie (pq < 100 G/L) +/- adénopathies et organomégalies	2	19

Tableau 3. Classification anatomo-clinique de Binet [11]

	Critères de définition	% patients	Survie médiane
Stade A Bon pronostic	Lymphocytose, Hb >100 g/L, et Pq > 100.10 ⁹ /L Moins de 3 aires lymphoïdes atteintes*	63	10 ans, comparable à la population de même âge
Stade B Pronostic intermédiaire	Lymphocytose, Hb > 100 g/L, et Pq > 100.10 ⁹ /L Plus de 3 aires lymphoïdes atteintes*	30	5 ans
Mauvais pronostic (III+IV)	Lymphocytose, Hb < 100 g/L, et/ou Pq < 100.10 ⁹ /L Quel que soit le nombre d'aires lymphoïdes atteintes	7	2 ans

*5 aires ganglionnaires sont définies : tête et cou, creux axillaires (atteinte uni ou bilatérale), régions inguinales (atteinte uni ou bilatérale), splénomégalie, hépatomégalie.

4.2. Facteurs pronostiques issus de l'hémogramme

Pour de nombreux auteurs, l'importance de la lymphocytose au diagnostic n'a pas de valeur pronostique, mais dans une étude récente menée sur des patients de stade A, une hyperlymphocytose supérieure à $13.10^9/L$ au moment du diagnostic est un facteur péjoratif indépendant en terme de survie sans progression [110].

Un temps de doublement des lymphocytes inférieur à 12 mois a également été rapporté comme péjoratif dans des études rétrospectives [126, 128].

Enfin, une morphologie sanguine atypique (plus de 10% de prolymphocytes, 15% de cellules à noyau clivé ou d'aspect lymphoplasmocytaire, ou plus de $5.10^9/L$ prolymphocytes) est un critère de mauvais pronostic [138, 171].

4.3. Marqueurs sériques

La $\beta 2$ -microglobuline est une protéine extracellulaire associée à la chaîne alpha du CMH de classe I. Son expression a été étudiée par plusieurs groupes et un taux sérique élevé serait un facteur pronostique défavorable indépendant en terme de progression, de réponse au traitement et de survie sans progression [84, 110].

La thymidine kinase est une enzyme impliquée dans la synthèse de l'ADN qui est retrouvée dans les cellules en division. Elle pourrait donc représenter un bon marqueur de l'activité proliférative de la LLC. Son taux sérique a été corrélé au stade, à la survie sans progression et au statut mutationnel des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines [83, 84, 99, 118].

4.4. Anomalies cytogénétiques

Du fait de la faible activité proliférative des cellules de LLC et de la difficulté d'obtenir des mitoses analysables pour la réalisation d'un caryotype, des anomalies chromosomiques n'ont été détectées initialement que chez 40 à 55% des patients [52, 98]. Le développement de la FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) a permis de mettre en évidence ces anomalies chez plus de 80% des patients [52, 78]. Plus récemment, le développement d'agents mitogènes modernes a permis la génération de métaphases dans les cellules de plus de 98% de patients de LLC et la réalisation du caryotype a permis la détection d'anomalies cytogénétiques chez

83% d'entre eux. La cytogénétique conventionnelle et la FISH semblent donc actuellement complémentaires. La cytogénétique a profondément modifié la signification pronostique des classifications cliniques.

4.4.1. Délétion du bras long du chromosome 13 (del 13q14)

C'est l'anomalie cytogénétique la plus fréquente. Souvent cryptique, elle est détectée dans 13 à 27% des cas par cytogénétique conventionnelle, et dans environ 55% des cas par la technique FISH [8, 52, 78, 98]. Il s'agit d'une anomalie de bon pronostic lorsqu'elle est isolée et est corrélée au meilleur taux de survie, supérieur à celui des patients avec une étude par FISH normale (133 contre 111 mois, figure 1) [52]. La délétion 13q14 est actuellement considérée comme un évènement précoce dans la transformation leucémique.

4.4.2. Délétion du bras long du chromosome 11 (del 11q22.23)

Cette anomalie aboutit à la délétion du gène suppresseur de tumeur ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated). Elle est retrouvée chez 12 à 20% des patients et est associée à une atteinte ganglionnaire importante, à la nécessité de mettre en route un traitement plus précocement ainsi qu'à une survie médiane inférieure à celle des patients avec FISH normale (79 contre 111 mois, figure 1) [52, 53, 78].

4.4.3. Délétion du bras court du chromosome 17 (del 17p13)

La délétion 17p, responsable de la perte du gène suppresseur de tumeur TP53, est retrouvée par FISH chez environ 5 à 7% des patients (à n'importe quel moment de l'évolution de leur pathologie). Si elle n'est présente que chez 3% des patients de stade précoce et 5% des patients pour lesquels la mise en place d'un traitement de première ligne est nécessaire, elle est retrouvée chez 31% des patients avec une LLC réfractaire. C'est l'anomalie chromosomique de plus mauvais pronostic (survie médiane de 32 mois, figure 1) [52, 53, 78, 189]. Elle est associée à une résistance à la chimiothérapie conventionnelle (analogue des purines et agents alkylants) [51].

De plus, une mutation du gène TP53, non détectée par FISH et responsable de la perte de fonction du gène est retrouvée chez environ 5% des patients. Son pronostic est aussi sombre que la délétion 17p [188, 190]. L'étude de la voie p53 (cytogénétique voire biologie moléculaire) est indispensable avant l'instauration d'un traitement spécifique.

4.4.4. Trisomie 12

La trisomie 12 est une anomalie fréquemment rencontrée dans la LLC (13 à 20% des patients) [4, 8, 52, 78]. Elle est très souvent associée à des atypies cytologiques, ainsi qu'à un profil phénotypique particulier avec un score de Matutes inférieur à 4 (forte intensité d'expression de FMC7 et de l'immunoglobuline de surface) [36, 121]. Son pronostic est controversé, défini comme intermédiaire dans la plupart des études [8, 52].

4.4.5. Autres anomalies chromosomiques

Une délétion du bras long du chromosome 6 (del 6q21) est mise en évidence chez 5 à 6% des patients. Elle est corrélée à une hyperlymphocytose importante, une morphologie atypique et un pronostic intermédiaire [37, 52, 78].

Des translocations impliquant un réarrangement du gène des chaînes lourdes des immunoglobulines situé sur le chromosome 14 (locus 14q32) ont été mises en évidence dans 4 à 7% des LLC, leur conférant un mauvais pronostic [23, 52].

Assez fréquemment observée, la survenue d'une évolution clonale semble survenir plus fréquemment chez les patients « non mutés » et constitue un facteur péjoratif [168].

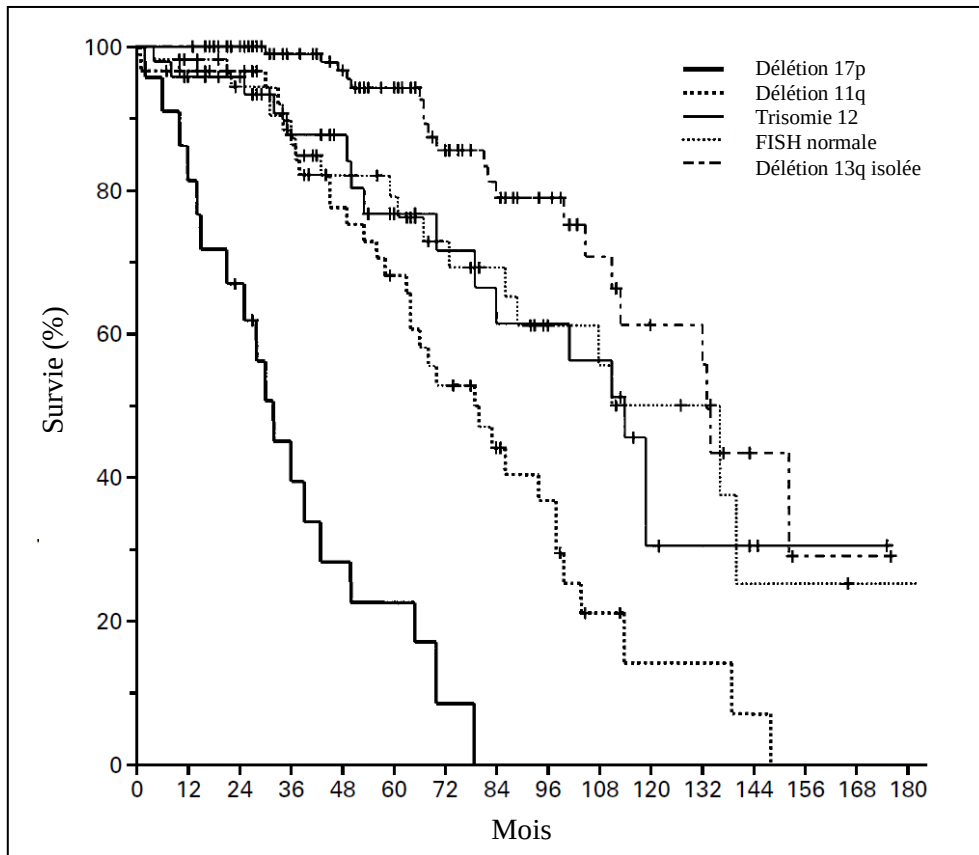


Figure 1. Probabilité de survie depuis la date du diagnostic dans les différents groupes cytogénétiques. D'après Döhner *et al.* [52]

FISH normale : absence de délétion 6q21, 11q22.23, 13q14, 17p13, absence de trisomie 3q26, 8q24, 12q13, absence de translocation impliquant la bande 14q32

4.5. Statut mutationnel des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines

Les immunoglobulines sont des protéines constituées de deux chaînes lourdes et deux chaînes légères comportant chacune une région variable et une région constante. La région variable des chaînes légères (L) est codée par deux segments d'ADN V (Variable) et J (Jonction), celle des chaînes lourdes par trois segments V, D (Diversité) et J. Lors de la maturation des pro-lymphocytes dans la moelle osseuse, la diversité structurelle de la partie variable est assurée par la recombinaison aléatoire d'un nombre limité de fragments V, D et J, donnant naissance à des lymphocytes B naïfs. Dans le centre germinatif des organes lymphoïdes secondaires, cette diversité structurelle est augmentée par le phénomène d'hypermutation somatique grâce à l'action d'une enzyme appelée AID (Activation Induced cytidine Deaminase) qui transforme les bases cytidine des régions géniques V en uracile. L'exposition d'un antigène aux

lymphocytes B permet ensuite la sélection positive du clone lymphocytaire possédant le récepteur de plus forte affinité pour l'antigène. Les lymphocytes B ainsi sélectionnés sont appelés lymphocytes post-centre germinatif.

Dans la LLC, le statut mutationnel du gène des chaînes lourdes des immunoglobulines (IgVH) est étudié par séquençage des gènes des IgVH des lymphocytes B de LLC puis comparaison avec des séquences de références. Une homologie de plus de 98% avec la séquence de référence définit le statut « non muté » ; une homologie inférieure à 98% le statut « muté ».

En 1999, deux études ont mis en évidence l'existence de deux profils de LLC avec un pronostic très différent en fonction du statut mutationnel des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines [43, 87]. Les patients avec un profil « non muté » (environ 50% des patients) ont un pronostic défavorable avec nécessité d'instauration d'un traitement plus précoce, une moins bonne réponse au traitement, des anomalies cytogénétiques de mauvais pronostic ainsi qu'une survie inférieure [43]. Dans l'étude rapportée par Hamblin, les patients « non mutés » ont une médiane de survie globale de 117 mois contre 293 pour les patients « mutés ». Chez les patients de stade A, l'étude du statut mutationnel des immunoglobulines a également une forte valeur pronostique (médiane de survie de 95 mois pour les patients « non mutés », 293 mois pour les patients « mutés ») [87]. Par la suite, ces résultats ont été confirmés par plusieurs études.

Tobin *et al* ont également démontré que l'utilisation de certaines séquences telle VH3-21 confère une pronostic péjoratif, et ce quel que soit le statut mutationnel des gènes des IgVH [170].

Malgré son impact pronostic fort, cet examen est relativement lourd sur le plan technique et n'est habituellement pas réalisé en routine en dehors d'essais cliniques. De nombreuses études ont ensuite tenté de définir des marqueurs de substitution [97, 105, 131, 146].

4.6. Marqueurs immunophénotypiques

4.6.1. Le CD38

Le CD38 est un récepteur membranaire présent à la surface des lymphocytes T, mais il est également exprimé par certains lymphocytes B, notamment post-centre germinatif. La mesure de l'expression du CD38 est accessible en routine par cytométrie en flux, mais le seuil de positivité n'est pas consensuel (7, 20 ou 30%). Dans différentes études, l'expression du CD38 a été associée à un syndrome tumoral important, une anémie, une β 2-microglobuline élevée, ainsi qu'à une survie sans progression et une réponse au traitement inférieures, et représente donc un critère péjoratif [12, 48, 58, 69, 88, 105, 110, 114, 119]. L'expression du CD38 a été proposée comme marqueur de substitution au statut mutationnel des IgVH, mais la corrélation n'est pas optimale [43, 69, 88, 97].

4.6.2. Zap-70

Après la mise en évidence de la corrélation entre le statut mutationnel des gènes des IgVH et l'évolutivité de la LLC, des études transcriptomiques ont été menées afin de déterminer les gènes les plus différenciellement exprimés entre les deux profils. En analyse supervisée, l'expression de Zap-70 a semblé particulièrement discriminante [152].

La protéine Zap-70 (Zeta-Associated Protein 70kDa) est une tyrosine kinase de la famille *syk* présente dans les lymphocytes T à l'état physiologique, phosphorylée après activation du récepteur à l'antigène des cellules T, et responsable de la transduction du signal et de l'activation de plusieurs voies de signalisation intracellulaires. Elle n'est pas exprimée dans les lymphocytes B normaux, mais peut-être retrouvée dans les cellules leucémiques de certains patients atteints de LLC. L'expression de Zap-70 est le plus souvent évaluée par cytométrie en flux et une étude a été menée afin de déterminer un protocole standardisé permettant l'harmonisation des résultats [111].

L'expression de Zap-70 constitue un facteur pronostique défavorable. Sa corrélation au statut « non muté » des gènes des IgVH demeure imparfaite [35, 59, 131, 137, 145, 146].

D'autres facteurs pronostiques ont été proposés mais ils sont encore en cours d'évaluation et ne sont pas réalisés en routine.

4.7. Facteurs pronostiques et pratique clinique quotidienne

Dans le dernier référentiel de la Société Française d'Hématologie (SFH) sur la prise en charge de la LLC, seule la recherche de délétions 11q et 17p par FISH est recommandée avant l'instauration d'un traitement.

D'après la dernière publication de l'IWCLL en 2008, seule une étude cytogénétique par FISH 5 sondes à la recherche de délétions 13q, 11q, 17p, 6q et d'une trisomie 12 est conseillée avant l'initiation d'un traitement [81].

En routine, la β 2-microglobuline est habituellement dosée et l'étude de l'expression membranaire du CD38 fait partie intégrante de l'immunophénotypage des lymphocytes sanguins. La détermination des autres facteurs pronostiques (dosage de la thymidine kinase, expression de Zap-70 et statut mutationnel des immunoglobulines) n'a pas d'indication en dehors d'essais thérapeutiques.

5. Traitement spécifique de la LLC

En dehors de tout essai clinique, l'abstention thérapeutique est consensuelle pour les patients présentant une LLC de stade A selon la classification de Binet, quels que soient les facteurs pronostiques. Une simple surveillance comportant un examen clinique et un hémogramme tous les 3 à 12 mois semble suffisante. Les patients présentant un stade B ou C doivent de principe bénéficier d'un traitement spécifique. Toutefois, il est important de prendre en compte l'évolutivité de la LLC avant de poser une indication thérapeutique. On peut être amené à initier un traitement chez un patient qui présente un stade A évolutif ou à différer sa mise en route en cas de stade B non évolutif et peu symptomatique [75, 81]. Pour tous les patients, l'inclusion dans un protocole thérapeutique doit être privilégiée.

5.1. Traitement de première ligne

Pendant de nombreuses années, le chlorambucil *per os* était considéré comme le traitement de référence en première ligne. Depuis le développement de nouvelles molécules plus efficaces, son utilisation doit être réservée aux sujets très âgés ou présentant des comorbidités importantes les rendant inéligibles pour d'autres traitements [75, 80].

Le traitement standard actuel repose sur l'association d'un anticorps monoclonal anti-CD20, le rituximab et d'une chimiothérapie. Le type d'association est conditionné par l'âge, l'état général, la fonction rénale et l'existence d'autres comorbidités. Chez les sujets aptes à recevoir ce traitement, l'immuno-chimiothérapie de première ligne repose sur l'association de rituximab à la fludarabine (analogue des purines) et au cyclophosphamide (agent alkylant). Dans un essai prospectif de l'intergroupe allemand portant sur 817 patients et nommé CLL8, cette association (dénommée FCR) a démontré un bénéfice significatif par rapport au traitement de référence comportant fludarabine et cyclophosphamide (FC) en termes de réponse globale (90% réponse dans le bras FCR, 80% de réponse dans le bras FC), de réponse complète (44% dans le bras FCR, 22% dans le bras FC), de survie sans progression à 3 ans (65% dans le bras FCR, 45% dans le bras FC) et de survie globale à 3 ans (87% dans le bras FCR, 83% dans le bras FC) [82].

Les patients présentant une délétion 17p sont habituellement réfractaires aux analogues des purines et aux agents alkylants. L'avènement du rituximab et sa combinaison à la chimiothérapie n'ont pas permis d'améliorer la réponse thérapeutique chez ce type de malade [82]. Le traitement de première ligne de ces patients repose sur un anticorps monoclonal anti-CD52, l'alemtuzumab, en association avec des corticoïdes à forte dose. Cette association est la seule qui ait démontré une efficacité dans cette indication [75, 80, 116, 167]. Chez les patients jeunes avec délétion de TP53, une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques doit être envisagée en première intention [56].

5.2. *Traitement de la rechute*

La prise en charge thérapeutique de la rechute est moins consensuelle et repose sur des avis d'experts. L'inclusion dans un protocole de recherche thérapeutique doit être proposée dès que possible.

Après une première réponse de longue durée (supérieure à 24 mois), la reprise d'un traitement identique au précédent est en général indiquée.

En cas de LLC réfractaire ou de rechute précoce (inférieure à 24 mois) après une première ligne de polychimiothérapie comportant un analogue des purines, une greffe de cellules souches allogéniques doit être envisagée chez les sujets jeunes. Le traitement de seconde ligne peut alors comporter de l'alemtuzumab (anticorps anti-CD52) associé à la dexaméthasone, de la bendamustine (molécule associant un noyau alkylant et un analogue des purines) associée ou non au rituximab, ou de l'ofatumumab (nouvel anticorps anti-CD20 indiqué chez les patients réfractaires à la fludarabine et l'alemtuzumab). D'autres molécules prometteuses telles que le lenalidomide et le GA-101 (nouvel anticorps anti-CD20) sont également disponibles dans le cadre d'essais thérapeutiques [56, 76, 80, 159].

La prise en charge thérapeutique des LLC associées à des manifestations dysimmunitaires fera l'objet d'un chapitre spécifique.

AUTO-IMMUNITE ASSOCIEE A LA LEUCEMIE LYMPHOIDE CHRONIQUE

Parmi tous les syndromes lymphoprolifératifs, la LLC se distingue par la fréquente survenue d'évènements dysimmunitaires au cours de son évolution. Cette auto-immunité, décrite depuis le milieu du vingtième siècle, concerne principalement les cellules sanguines, mais d'autres atteintes organiques ont été rapportées.

1. Auto-immunité non hématologique

L'auto-immunité non hématologique associée à la LLC est rare et sa description ne repose que sur des cas rapportés. Il est illusoire d'essayer d'en évaluer l'incidence, et la nature auto-immune des atteintes n'est pas toujours établie de façon formelle.

1.1. Pemphigus paranéoplasique

De nombreux cas de pemphigus paranéoplasiques ont été rapportés chez des patients atteints de LLC. Des auto-anticorps anti-keratinocytes (anti-bullous pemphigoid antigen, anti-desmoglérine, anti-desmoplakine ou dirigés contre d'autres membres de la famille des plakines ou des protéines transmembranaires), fréquemment de type IgG, sont habituellement retrouvés par immunohistochimie. Plusieurs cas sont survenus en cours de traitement par fludarabine, bien que son imputabilité n'ait pu être démontrée. Le pronostic de ces malades est globalement péjoratif ; le traitement repose sur l'immunosuppression, associée ou non au traitement spécifique de la LLC, et les complications infectieuses graves sont fréquentes [2, 7, 15, 38, 73, 142, 143, 158, 169, 180].

1.2. Angioœdème acquis

Les syndromes lymphoprolifératifs représentent une cause non négligeable de déficit acquis en C1-inhibiteur pouvant entraîner des épisodes d'angioœdème. Deux types ont été décrits : le type 1, sans auto-anticorps détecté, où le déficit est probablement secondaire à la consommation de C1-inhibiteur par la tumeur, et le type 2, avec présence d'auto-anticorps anti-C1-inhibiteur. Ces auto-anticorps ont notamment été détectés chez des patients présentant un lymphome non hodgkinien. Plusieurs épisodes d'angioœdème ont été rapportés chez des patients atteints de LLC, mais aucun auto-anticorps n'a été mis en évidence, et l'origine dysimmunitaire du déficit en C1-inhibiteur dans la LLC n'est donc pas formellement affirmée [10, 31, 115].

1.3. Glomérulonéphrite

La première association entre syndrome néphrotique et LLC a été décrite en 1957 [160]. Depuis, plus de 50 cas de glomérulonéphrite chez des patients atteints de LLC ont été rapportés. Dans la majorité des cas, la ponction-biopsie rénale conclut à une glomérulonéphrite membrano-proliférative ou membranaire. Cette atteinte rénale est majoritairement secondaire à des dépôts d'immunoglobulines pouvant être secrétées par le clone tumoral et à la formation de complexes immuns. Plus rarement, elle est associée à une cryoglobulinémie ou à la présence d'auto-anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires (ANCA) [3, 5, 64, 90, 102, 113, 132, 134, 143, 191].

1.4. Autres atteintes organiques

Deux cas de polyneuropathies avec présence d'auto-anticorps anti-MAG (Myelin-Associated Glycoprotéin) ont été rapportés [55, 124]. D'autres atteintes neurologiques ont été décrites, mais le lien avec la LLC n'a pas été clairement établi.

On retrouve dans la littérature quelques cas rapportés associant LLC et lupus, polyarthrite rhumatoïde, Sjögren ou thyroïdite. Ces pathologies ne semblent néanmoins pas significativement liées à la LLC [93]. Une étude a également comparé la fréquence des auto-anticorps anti-thyroïde, cellules pariétales gastriques, mitochondries, muscles lisses, keratinocytes ou antinucléaires entre des patients atteints de LLC et une population témoin

aux caractéristiques démographiques comparables. Aucune différence significative n'a été mise en évidence [89, 93].

2. Cytopénies auto-immunes

L'auto-immunité hématologique dans la LLC est quasi-intégralement dirigée contre les cellules sanguines. En dehors de ces atteintes, quelques cas de patients présentant des troubles de l'hémostase par sécrétion d'un inhibiteur du facteur VIII ou du facteur XI de la coagulation ont été rapportés [120, 162].

2.1. Incidence des cytopénies auto-immunes

La LLC est la première cause d'anémie hémolytique auto-immune secondaire : environ 15% des anémies hémolytiques sont associées à la LLC. La survenue d'une anémie hémolytique auto-immune (AHAI), particulièrement chez des sujets de plus de 50 ans, doit donc de principe faire évoquer le diagnostic de LLC [62, 125, 157].

Dans les séries les plus anciennes, jusqu'à 30% des LLC étaient compliquées de cytopénies auto-immunes [85, 89]. Des études plus récentes suggèrent que la prévalence des cytopénies auto-immunes dans la LLC serait située entre 5 et 10% [13, 57, 89, 106, 123, 130, 174, 185]. Cette différence peut s'expliquer de deux façons. Tout d'abord, les centres ayant mené les premières études étaient des centres de référence qui accueillaient préférentiellement les patients avec des LLC graves et évolutives, constituant ainsi un biais de recrutement. D'autre part, les critères permettant de porter le diagnostic de cytopénie auto-immune n'étaient pas homogènes, et moins spécifiques.

L'anémie hémolytique auto-immune est la plus fréquente des manifestations dysimmunitaires. Son incidence varie de 2,3 à 7,7% dans les dernières études. Une thrombopénie auto-immune est retrouvée chez environ 2% des patients, mais son incidence est probablement sous-estimée du fait de l'absence de critère diagnostique spécifique. La survenue d'une érythroblastopénie n'est pas exceptionnelle, et est rapportée chez moins de 1% des patients. Enfin, l'existence d'une neutropénie auto-immune associée à la LLC reste sujette à caution ; aucun auto-

anticorps anti-polynucléaire neutrophile n'a été décelé et une neutropénie prolongée être d'origine multifactorielle, notamment post-thérapeutique. Le tableau 4 résume les caractéristiques des principales études rétrospectives.

Tableau 4. Principales études rétrospectives évaluant l'incidence des cytopénies auto-immunes dans la LLC

	Pays	Mono ou multicentrique	Période d'inclusion	Nombre patients	CAI (%)	AHAI (%)	PTI (%)	EAI (%)	Coombs + (%)
Hamblin [89]	E.U.	Monocentrique	1972-1985	195	9,7	7,7	2	0,8	7,7
Kyasa [106]	E.U.	Multicentrique	1990-1999	132	9,1	4,5	3,8	/	18
Mauro [123]	Italie	Monocentrique	1981-1996	1203	4,3	4,3	/	/	/
Barcellini [6]	Italie	Multicentrique	/	3150	6,2	4,1	1,1	/	/
Duek [57]	Israël	Multicentrique	1971-2006	964	6,6	5,7	0,9	/	/
Visco [174]	Italie	Multicentrique	1996-2004	1278	7,9	3,6	5	/	5,7
Zent [185]	E.U	Monocentrique	1995-2004	1750	4,5	2,3	2	0,5	5,8
Moreno [130]	Italie	Monocentrique	1980-2008	961	7	5,2	2,2	/	/

CAI : cytopénies auto-immunes, AHAI : anémie hémolytique auto-immune, PTI : purpura thrombopénique immunologique, EAI : érythroblastopénie auto-immune, Coombs+ : fréquence de la positivité du test de Coombs dans la population de patients atteints de LLC, E.U. : Etats-Unis

2.2. Facteurs associés aux cytopénies auto-immunes

Plusieurs caractéristiques ont été associées à une augmentation du risque de survenue d'une anémie hémolytique auto-immune et sont résumées dans le tableau 5. Dans la plupart des études, une corrélation avec le sexe masculin, un âge supérieur à 65 ans, et un stade avancé a été mise en évidence. Plusieurs facteurs pronostiques péjoratifs sont également significativement retrouvés chez les patients présentant des cytopénies auto-immunes : temps de doublement des lymphocytes court, β 2-microglobuline élevée, expression du CD38 et de ZAP-70, cytogénétique défavorable, statut « non muté » des IgVH [6, 89, 106, 123, 130, 172-174, 183, 185].

Tableau 5. Facteurs clinico-biologiques associés à la survenue de cytopénies auto-immunes

Facteurs associés	Références
Stade avancé	[6, 89, 106, 185]
Age > 65 ans	[6, 47, 123]
Sexe masculin	[123, 185]
Lymphocytose importante	[123, 130, 174]
Temps de doublement des lymphocytes court	[6, 130]
B2-microglobuline élevée	[47, 57, 130]
Expression du CD38	[57, 130]
Expression de ZAP-70	[174, 183-185]
Gènes des IgVH non mutés	[172-174, 185]
Cytogénétique défavorable	[185]

2.3. Auto-immunité déclenchée par le traitement

En plus des facteurs précédemment cités, la responsabilité du traitement spécifique de la LLC a été évoquée. Cette hypothèse a été soulevée pour la première fois en 1966 par Lewis qui a suggéré un possible déclenchement d'épisodes d'anémie hémolytique auto-immune par les agents alkylants ou la radiothérapie [112].

Dans les années 1990, de nombreux auteurs ont rapporté des épisodes de cytopénies auto-immunes survenus pendant ou peu de temps après la fin d'un traitement par fludarabine, principalement indiquée à l'époque chez les patients en rechute. Ces épisodes dysimmunitaires étaient décrits comme sévères, avec une mortalité directement liée à l'hémolyse relativement importante [17, 109, 117, 127, 133, 136, 141, 165, 175, 176]. Un cas après traitement par cladribine, autre analogue des purines, a été rapporté [149].

Néanmoins, plusieurs études de première ligne ultérieures ont comparé les analogues des purines, seuls ou en association à un agent alkylant, à un traitement dit « de référence ». Il n'a pas été retrouvé d'incidence accrue d'AHAI dans les bras comportant des analogues des purines [22, 47, 61, 66, 108, 150]. Les résultats de l'essai CLL4 de l'intergroupe britannique comparant l'association fludarabine et cyclophosphamide (FC) à une monothérapie par fludarabine (F) ou chlorambucil (C) suggèrent même que l'association FC pourrait protéger de la survenue d'AHAI (AHAI dans le bras FC : 4%, dans le bras F : 11%, dans le bras C : 12%). Ce constat n'a pas été confirmé par deux études similaires menées par les intergroupes allemand et américain, où le taux d'anémie hémolytique auto-immune est comparable dans tous les groupes [22, 47, 61, 66]. Enfin, l'association du rituximab au traitement par FC ne semble pas modifier l'incidence de survenue de cytopénie auto-immunes. Dans l'essai CLL8 de l'intergroupe allemand rapporté par Hallek et comparant prospectivement FC et FCR en première ligne, l'incidence de l'anémie hémolytique est de 1% dans le groupe FC et inférieure à 1% dans le groupe FCR [82]. Une étude rétrospective monocentrique américaine sur une cohorte de 300 patients traités par FCR en première ligne a retrouvé une incidence d'AHAI de 5,8% [13].

Pour certains auteurs, l'incidence d'AHAI initialement élevée sous fludarabine était liée à son indication de l'époque, à savoir prescrite en monothérapie chez des patients avec une maladie grave et lourdement pré-traités, et non à la molécule en elle-même. Le rôle des analogues des purines dans le déclenchement de cytopénies auto-immunes est donc toujours débattu.

Un cas unique de thrombopénie auto-immune après traitement par alemtuzumab est rapporté dans la littérature [139]. L'alemtuzumab ne semble pas favoriser la survenue de cytopénies auto-immunes et est même parfois proposé comme traitement des formes réfractaires.

2.4. Diagnostic des cytopénies auto-immunes

2.4.1. Anémie hémolytique auto-immune

Le diagnostic d'anémie hémolytique auto-immune est porté sur l'association de signes biologiques d'hémolyse et d'auto-immunité. Les critères diagnostiques sont relativement homogènes dans les différentes séries et ne diffèrent pas de ceux utilisés pour le diagnostic d'AHAI idiopathique. En 2007, Ding et Zent ont publié des recommandations diagnostiques

qui sont résumées dans le tableau 6 et utilisées dans les publications récentes [50]. Le principe du test de Coombs direct est exposé en annexe 1.

Chez les patients atteints de LLC, le diagnostic d'AHAI peut être plus malaisé. L'augmentation de la réticulose peut parfois manquer du fait d'une infiltration médullaire importante ou de la toxicité d'une chimiothérapie récente. Certains signes d'hémolyse extra-vasculaire peuvent manquer : jusqu'à 40% des patients ont une bilirubine normale, et l'élévation du taux de LDH peut être due à une forte masse tumorale. Si le test de Coombs est très souvent positif en IgG et/ou en C3d en présence d'anticorps chauds, il est négatif ou positif uniquement en C3d en cas d'agglutinines froides. La présence de sphérocytes sur le frottis sanguin doit faire évoquer le diagnostic d'hémolyse et le dosage de l'haptoglobine est utile même s'il est moins sensible en cas d'hémolyse extra-vasculaire.

De plus, de nombreux patients atteints de LLC présentent une auto-immunisation érythrocytaire sans hémolyse associée. La présence d'un test de Coombs direct positif n'est donc pas suffisante pour affirmer l'AHAI.

En cas de problème diagnostique, une évaluation médullaire doit être pratiquée [94].

Tableau 6. Recommandations diagnostiques : anémie hémolytique auto-immune [50].

Anémie hémolytique auto-immune	
1. Présence d'au moins un marqueur d'hémolyse	
- Elévation de la bilirubine indirecte sans hépatopathie associée - Elévation du taux de LDH sans autre étiologie retrouvée - Augmentation de la réticulocytose ($> 150.10^9/L$) ou augmentation de l'érythropoïèse médullaire sans hémorragie	
ET	
2. Argument direct ou indirect d'auto-immunité	
- Test de Coombs direct positif en IgG ou C3d - Présence d'agglutinines froides	
OU	
- au moins 2 marqueurs d'hémolyse en l'absence d'hémorragie ou d'hypersplénisme	

2.4.2. Purpura thrombopénique immunologique

Chez les patients atteints de LLC, l'auto-immunité n'est pas la première cause de thrombopénie. Elle est le plus souvent liée à un hypersplénisme, une insuffisance médullaire par infiltration tumorale ou à une toxicité médullaire du traitement. Le diagnostic repose sur des arguments indirects, les tests de recherche d'anticorps anti-plaquettes n'étant ni sensibles ni spécifiques. La suspicion de thrombopénie auto-immune justifie la réalisation d'un myélogramme. Les critères diagnostiques proposés sont résumés dans le tableau 7, mais ne sont pas consensuels [50].

Chez les patients atteints de LLC, l'origine auto-immune de la thrombopénie n'est pas toujours évidente. Une thrombopénie isolée doit faire suspecter une origine immunologique. Lorsque la thrombopénie est liée à la progression de la maladie, elle est souvent accompagnée sinon précédée d'une anémie [144, 186]. La récupération plaquettaire post-thérapeutique peut également être très retardée, et en cas d'infiltration médullaire massive, la richesse mégacaryocytaire médullaire est difficile à évaluer. En cas de doute persistant sur l'origine de la thrombopénie, la réponse à une corticothérapie peut constituer un élément de réponse [94].

L'association d'une anémie et d'une thrombopénie d'origine auto-immune définit le syndrome d'Evans.

Tableau 7. Recommandations diagnostiques : thrombopénie auto-immune [50].

Thrombopénie auto-immune
Plaquettes $< 100.10^9/L$ avec décroissance rapide $> 50\%$
ET Absence d'hypersplénisme
ET Absence de chimiothérapie récente
ET Absence de consommation plaquettaire d'autre cause
ET Richesse mégacaryocytaire médullaire normale ou augmentée

2.4.3. Érythroblastopénie auto-immune

Une érythroblastopénie est suspectée devant l'association d'une anémie normochrome arégénérative isolée et une réticulocytopénie. L'étude médullaire est systématique et retrouve un déficit quantitatif ainsi qu'un défaut de maturation des érythroblastes. En cas d'infiltration lymphocytaire massive, un marquage de la glycophorine A en immunohistochimie peut permettre l'identification des précurseurs érythrocytaires. Chez ces patients immunodéprimés, la découverte d'une érythroblastopénie implique la recherche d'infections virales par le cytomégalovirus, l'Epstein-Baar virus et le parvovirus B19 [68, 94]. Les critères diagnostiques sont résumés dans le tableau 8.

Tableau 8. Recommandations diagnostiques : érythroblastopénie auto-immune [50].

Erythroblastopénie auto-immune
Hémoglobine < 120 g/L
ET Réticulopénie
ET Absence isolée de précurseurs érythrocytaires dans la moelle osseuse
ET Absence d'infection par le parvovirus B19 (par PCR sanguine)
ET Richesse mégacaryocytaire médullaire normale ou augmentée

2.5. Physiopathologie de l'anémie hémolytique associée à la LLC

La physiopathologie de l'anémie hémolytique chez les patients atteints de LLC est complexe. A l'heure actuelle, les facteurs responsables du déclenchement de l'anémie hémolytique ne sont pas formellement identifiés et il est impossible d'expliquer pourquoi certains patients présentent cette complication et d'autres non [85, 93, 186].

2.5.1. Origine des auto-anticorps

Les auto-anticorps dirigés contre les érythrocytes peuvent être sécrétés par le clone lymphoïde tumoral ou par des lymphocytes B normaux. Au début des années 1990, plusieurs équipes ont démontré qu'après stimulation par des agents mitogènes *in vitro*, les cellules de LLC étaient capables de produire des IgM monoclonales polyréactives de faible affinité contre des antigènes du soi : ADN simple ou double brin, histones, cardiolipines, composants du cytosquelette ou activité facteur rhumatoïde [16, 103, 166]. Dans moins de 10% des cas, l'hémolyse associée à la LLC est due à une maladie des agglutinines froides, dont l'immunoglobuline serait sécrétée par le clone [24, 123, 156, 179].

En revanche, chez plus de 90% des patients, les auto-anticorps sont de type IgG et l'étude des chaînes légères retrouve la présence de chaînes kappa et lambda, signant la polyclonalité. Ces anticorps « chauds » de haute affinité sont très probablement sécrétés par des lymphocytes B normaux après stimulation par des lymphocytes T auto-réactifs [85].

Dans la plupart des cas, le clone LLC n'est donc pas directement responsable de la production d'auto-anticorps, mais son interaction avec la population lymphocytaire T pourrait favoriser la survenue d'une anémie hémolytique auto-immune.

2.5.2. Dysfonction lymphocytaire T

L'existence d'anomalies qualitatives et quantitatives de la lignée T a été démontrée. Dans le sang de patients atteints de LLC, on retrouve une augmentation de la population lymphocytaire T, majoritairement CD8, avec inversion du rapport CD4/CD8.

La sécrétion de cytokines comme l'IL6, l'IL 10 et le TNF par les cellules tumorales crée un microenvironnement immunomodulateur qui inhibe la réponse anti-tumorale mais pourrait également permettre le développement de l'auto-immunité [93, 147].

A l'état physiologique, les lymphocytes T régulateurs (Treg), de phénotype CD4⁺ CD25^{fort} Fox P3⁺ jouent un rôle primordial dans la suppression des lymphocytes T autoréactifs. Le nombre de lymphocytes T régulateurs a été corrélé au stade de la LLC et augmente avec l'évolution de la maladie [9, 71, 96]. L'hypothèse d'une dysfonction des ces lymphocytes T régulateurs responsable d'une perte de la tolérance au soi a été évoquée, mais n'a pas été établie [85, 186].

2.5.3. Présentation d'antigènes par les cellules tumorales

In vitro, les lymphocytes B de LLC semblent peu aptes à présenter efficacement des antigènes, principalement du fait de leur faible expression membranaire de CD80 et CD86. Ces deux molécules de co-stimulation jouent un rôle primordial dans l'interaction avec les lymphocytes T (via le récepteur CD28 des lymphocytes T) [44]. En revanche, *in vitro*, l'activation du CD40 exprimé à la surface des lymphocytes B de LLC par le CD154 (CD40L) améliore la capacité de présentation des antigènes par augmentation de l'expression membranaire du CD80 et du CD86. *In vitro*, deux études ont démontré la capacité des cellules de LLC à présenter des antigènes érythrocytaires aux lymphocytes T après activation par le CD154, induisant une prolifération T spécifique d'antigène. Les premiers antigènes décrits étaient des protéines rhésus [79]. La deuxième étude démontrait la capacité de fixation et de présentation de la protéine Band 3 par les cellules de LLC. La protéine Band 3 est la principale glycoprotéine membranaire des érythrocytes, mais est captée par les cellules tumorales uniquement sous forme de vésicules ressemblant à des corps apoptotiques. Pour les auteurs, le rôle de la rate serait primordial dans le déclenchement de l'hémolyse du fait de son infiltration tumorale souvent importante, de son implication dans la destruction physiologique des érythrocytes ainsi que de la présence de nombreux lymphocytes T CD4⁺ exprimant le CD154 [67].

2.5.4. Anémie hémolytique auto-immune et fludarabine

Même si l'implication de la fludarabine dans le déclenchement des anémies hémolytiques auto-immunes n'est pas consensuelle, elle induit *in vivo* une déplétion T profonde particulièrement marquée au niveau des lymphocytes T régulateurs, et pourrait donc faciliter l'échappement de lymphocytes T autoréactifs [9]. De plus, *in vitro*, la culture de cellules de LLC de certains patients en présence d'analogues des purines induit une expression transitoire de CD154 par les lymphocytes T. Chez ces patients, la survenue d'évènements dysimmunitaires serait plus fréquente, même si statistiquement peu significative, du fait du faible nombre de patients inclus dans l'étude [33].

La figure 2 résume les différents mécanismes supposés en cause dans la survenue de l'auto-immunité dans la LLC.

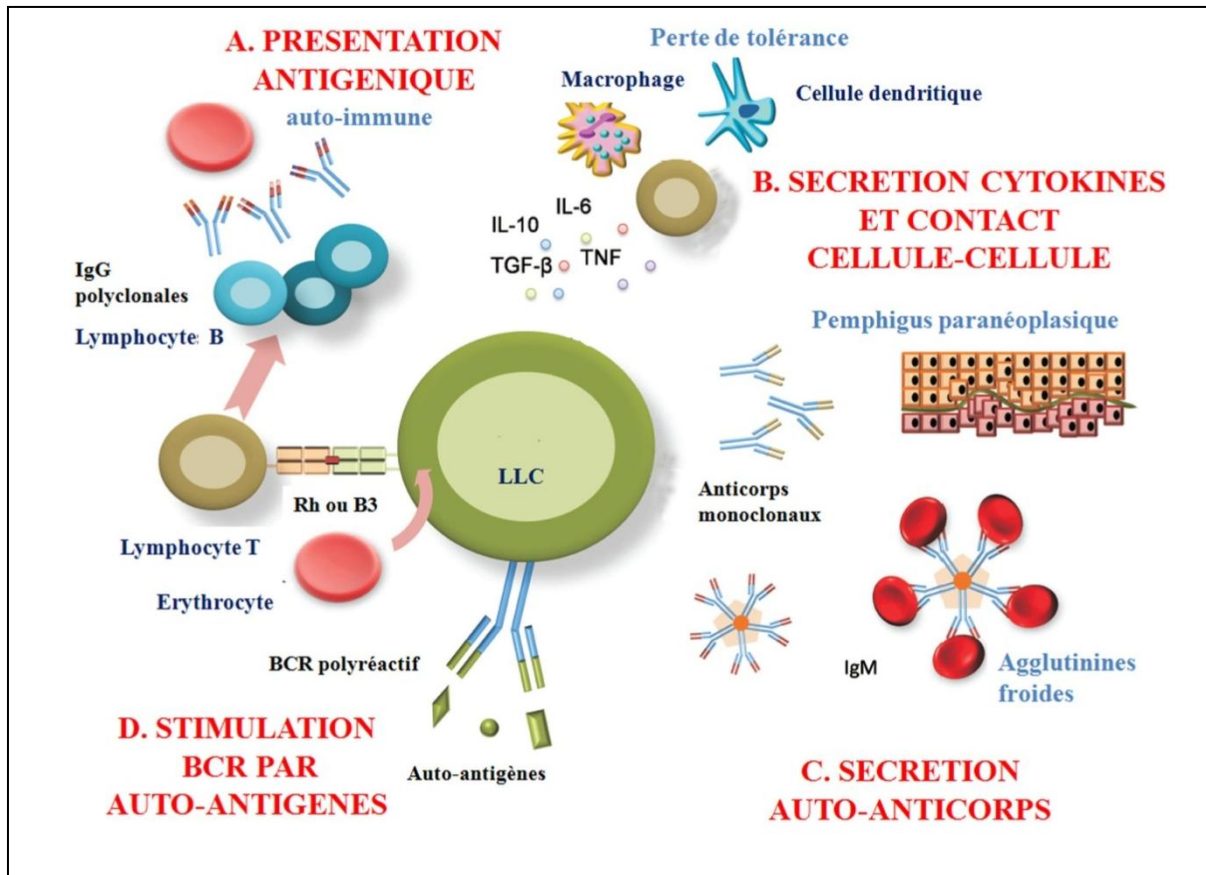


Figure 2. Physiopathologie de la dysimmunité liée à la LLC. D'après Hogdson *et al.* [93]

A. Présentation d'antigènes érythrocytaires par la cellule de LLC, induisant une réaction T et la production d'auto-anticorps polyclonaux par les lymphocytes B normaux. B. Sécrétion de cytokines inhibitrices qui participent à l'échappement de cellules auto-réactives à la surveillance immunitaire. C. Rares cas de sécrétion d'auto-anticorps monoclonaux par les cellules tumorales responsable de pemphigus paranéoplasique ou de maladie des agglutinines froides. D. Possible stimulation des cellules de LLC via leur BCR par des auto-antigènes.

2.6. Pronostic des cytopénies auto-immunes associées à la LLC

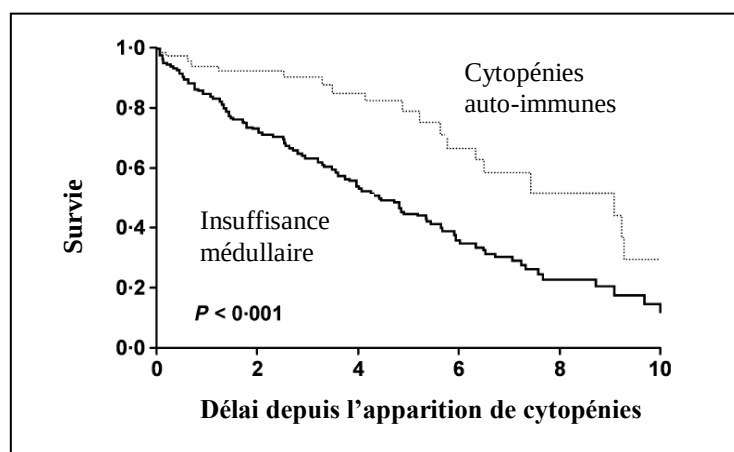
Même si la survenue de cytopénies auto-immunes est clairement corrélée à des facteurs pronostiques défavorables, son impact sur la survie globale des patients n'est pas clair. La grande majorité des études sont rétrospectives et les seules données prospectives sont issues de sous-groupes de patients inclus dans des protocoles thérapeutiques, et donc par définition sélectionnés.

Dans toutes les grandes séries rétrospectives, les cytopénies ne représentent pas un facteur pronostique péjoratif indépendant en terme de survie globale [106, 123, 130, 173, 183-185].

En revanche, dans l'essai prospectif britannique de première ligne CLL4 comparant FC à la fludarabine ou le chloraminophène en monothérapie, la survenue d'une AHAI est associée à une survie globale inférieure en analyse multiparamétrique.

La mise en évidence d'un test de Coombs positif est fréquente chez les patients atteints de LLC (jusqu'à 30% des patients dans certaines séries). En l'absence d'hémolyse, un test de Coombs positif pourrait constituer un facteur pronostique défavorable en terme de réponse au traitement et de survie globale [47, 178]. En revanche, chez les patients présentant une anémie hémolytique, un test de Coombs négatif, signant le plus souvent la présence d'un auto-anticorps de type IgM, est un critère péjoratif [123].

Enfin, les études historiques de Rai et Binet ont démontré que la présence de cytopénies était corrélée à une diminution de la survie des patients. Les classifications issues de ces deux études sont toujours d'actualité mais ne précisent pas l'origine des cytopénies. Plusieurs études ont comparé des cohortes de patients de stade C (classification de Binet) ou stade III-IV (classification de Rai) selon l'étiologie des cytopénies : par infiltration médullaire ou anémie hémolytique auto-immune. Dans toutes les séries, les stades C « auto-immuns » ont une survie significativement supérieure aux stades C « infiltratifs » [46, 106, 130, 184, 185]. La figure 3 est issue de l'étude de Zent *et al.* et représente la survie à partir de l'apparition de cytopénies en fonction de l'étiologie de ces cytopénies. Certains auteurs ont donc proposé la création de classifications séparant ces deux entités. [46, 106, 130, 184, 185].



**Figure 3. Survie après apparition de cytopénies en fonction de l'étiologie des cytopénies.
D'après Zent *et al.* [185]**

Survie médiane après apparition de cytopénies liées à l'insuffisance médullaire : 4,4 ans. Survie médiane après apparition de cytopénies d'origine auto-immune : 9,1 ans.

2.7. Traitement de l'anémie hémolytique auto-immune

La prise en charge des cytopénies auto-immunes associées à la LLC ne fait pas l'objet de recommandations écrites et les données publiées dans la littérature émanent d'avis d'experts, dont les opinions divergent parfois. Aucune étude prospective n'a été consacrée au traitement de l'anémie hémolytique liée à la LLC, et les patients avec un antécédent d'anémie hémolytique ou avec une hémolyse active sont systématiquement exclus des protocoles thérapeutiques. Tous les auteurs s'accordent néanmoins sur la nécessité de distinguer la prise en charge des anémies hémolytiques dites « simples », sans évolutivité de la LLC, des anémies hémolytiques « complexes », concomitantes d'une poussée de la maladie, et qui nécessitent une thérapie anti-tumorale spécifique associée.

2.7.1. Prise en charge non spécifique

L'association de soins de support à la thérapeutique spécifique est primordiale. La transfusion érythrocytaire ne doit pas être négligée, même en période d'hémolyse aiguë si l'anémie est mal tolérée. Une collaboration avec le centre de transfusion sanguine pour la réalisation d'un cross-match et le choix des produits sanguins labiles est nécessaire. La recherche d'une allo-immunisation doit également être systématique chez les patients polytransfusés. La transfusion doit être réalisée lentement et peut être précédée d'une perfusion d'immunoglobulines polyvalentes afin d'essayer d'améliorer le rendement transfusionnel.

Une supplémentation en acide folique est indispensable pendant la période d'hémolyse aiguë afin d'éviter la survenue d'une anémie par carence vitaminique associée.

Chez ces patients immunodéprimés, une prophylaxie anti-pneumocystis est indiquée en cas de corticothérapie prolongée et les patients doivent être informés de la nécessité de consulter systématiquement en cas d'hyperthermie.

Enfin, une corticothérapie supérieure à 20mg par jour pendant plus de trois mois justifie la prescription de bisphosphonates afin de prévenir l'ostéoporose cortico-induite [94, 186].

2.7.2. Traitement de l'anémie hémolytique auto-immune « simple »

L'IWCLL a émis des recommandations concernant la prise en charge des anémies hémolytiques auto-immunes « simples » associées à la LLC. Le traitement de première ligne repose sur les glucocorticoïdes. Le traitement de deuxième ligne peut comprendre la splénectomie, les immunoglobulines polyvalentes intraveineuses, la cyclosporine A, l'azathioprine, le cyclophosphamide ou une immunothérapie par rituximab ou alemtuzumab. En cas d'hémolyse réfractaire, le traitement est identique à celui d'une anémie hémolytique « complexe » et justifie la prescription d'une immuno-chimiothérapie anti-tumorale.

- Corticothérapie

La corticothérapie à la dose initiale de 1 à 2 mg/kg/j constitue le traitement de première intention de l'anémie hémolytique auto-immune, qu'elle soit idiopathique ou secondaire. Elle est maintenue à cette dose pendant 10 à 14 jours avant l'institution d'une décroissance lente sur plusieurs mois. Plus de 70% des patients vont répondre à ce traitement, mais cette réponse n'est durable que chez un tiers des patients. Pour d'autres patients, la décroissance cortisonique est associée à la réapparition de signes d'hémolyses qui nécessitera une nouvelle majoration des doses, signant la cortico-dépendance. Enfin, la rechute est fréquente dans les mois qui suivent l'arrêt de la corticothérapie [40, 85, 186].

Le mécanisme d'action des corticoïdes n'est pas précisément élucidé. La rapidité des réponses observées, de l'ordre de quelques jours, alors même que le test de Coombs direct est encore fortement positif, indique que le mécanisme initial ne repose pas sur la diminution de la sécrétion des auto-anticorps, mécanisme probablement plus tardif. Plusieurs études suggèrent une inhibition de l'ADCC (Cytotoxicité Cellulaire Antigène-dépendante) médiée par les macrophages, notamment par la diminution de l'expression des récepteurs Fc γ (récepteurs aux fragments Fc des immunoglobulines) à leur surface [140, 186].

- Immunoglobulines intraveineuses

Peu de données sont disponibles sur l'utilisation des immunoglobulines intraveineuses dans l'anémie hémolytique associée à la LLC. Elles sont le plus souvent administrées selon un schéma de type 0,4 g/kg/j pendant 5 jours ou 1 g/kg/j pendant 2 jours. Les réponses observées sont habituellement transitoires et la prescription des immunoglobulines intraveineuses semble plutôt réservée à des situations d'urgence quand un contrôle de l'hémolyse rapide est souhaité. De façon intéressante, une réduction de la taille des adénopathies a été observée chez certains patients après perfusion d'immunoglobulines intraveineuses [85, 186].

- Splénectomie

La splénectomie est indiquée en deuxième ligne ou en cas de cortico-dépendance chez les patients présentant une anémie hémolytique auto-immune idiopathique, et permet l'obtention d'une réponse maintenue dans environ deux tiers des cas [140]. Dans le cadre de l'anémie hémolytique associée à la LLC, peu de données sont disponibles et elles sont assez contradictoires. Une étude monocentrique rétrospective publiée en 1995 a comparé la réponse à la splénectomie chez 30 patients présentant une anémie hémolytique auto-immune primitive ou secondaire. Une réponse a été obtenue pour les 12 patients présentant une anémie hémolytique idiopathique, dont 82% de réponse complète, contre seulement 50% de réponse sans réponse complète pour les 8 patients atteints de LLC. La morbi-mortalité post-opératoire était également nettement supérieure dans le groupe LLC avec survenue de thromboses mais surtout d'infections graves : un abcès sous-phrénique gauche, une pneumocystose, plusieurs bactériémies [1]. En revanche, *Hill et al.* ont rapporté une série de 9 patients atteints de LLC ayant bénéficié d'une splénectomie par voie laparoscopique pour anémie hémolytique avec des résultats nettement supérieurs. Sur ces 9 patients, 7 ont obtenu une réponse complète, maintenue pour 6 d'entre eux avec un recul médian de 2 ans, et aucune complication majeure n'a été relevée [92]. L'indication de la splénectomie ainsi que les résultats attendus ne sont pas clairement établis, mais l'évaluation du risque infectieux semble importante chez les patients atteints de LLC et cette alternative semble proposée plus tardivement que dans l'anémie hémolytique auto-immune idiopathique.

- Rituximab

Le rituximab est le premier anticorps monoclonal anti-CD20 développé en clinique. Son efficacité dans le traitement des anémies hémolytiques réfractaires à la corticothérapie associées à la LLC a fait l'objet de nombreux cas rapportés [26, 95, 136, 141, 163, 182]. Dans la plus grande série publiée (14 patients pré-traités par corticothérapie), la perfusion hebdomadaire de rituximab pendant 4 semaines consécutives a entraîné une augmentation du taux d'hémoglobine chez 85% des patients (médiane 36 g/L) [39]. L'utilisation du rituximab est également intéressante sur le plan de l'épargne cortisonique et il peut parfois être associé à la corticothérapie en première ligne afin de diminuer la durée de cette dernière [186].

Dans cette indication, la posologie habituelle est de 375mg/m² par semaine pendant 4 semaines consécutives. Il n'existe aucune donnée sur l'intérêt d'une maintenance, mais la reprise du rituximab à la réapparition de signes d'hémolyse a permis l'obtention de nouvelles réponses durables [186].

Le mode d'action du rituximab dans l'anémie hémolytique associée à la LLC n'est pas clairement établi. La réponse est parfois très rapide, et ne peut donc pas être rapportée à une déplétion lymphocytaire B. L'hypothèse d'une hyper-expression du récepteur FcγIIb, récepteur inhibiteur, à la surface des macrophages, a été émise. En revanche, l'effet prolongé est probablement dû à la déplétion des lymphocytes B normaux (responsables de la sécrétion d'auto-anticorps) et des cellules tumorales (agissant possiblement comme des cellules présentatrices d'antigène) [85].

L'efficacité des nouveaux anticorps anti-CD20 tel l'ofatumumab n'a pas été évaluée.

- Traitement immunosuppresseur

Le traitement immunosuppresseur repose principalement sur la cyclosporine A. Sa principale indication semble être l'érythroblastopénie auto-immune mais des réponses chez des patients présentant une hémolyse ont été décrites [25, 27, 28, 74, 155, 164, 177]. Une étude rétrospective publiée en 2001 a montré une augmentation durable et supérieure à 30g /L du taux d'hémoglobine chez 10 patients cortico-réfractaires sur 16 traités [34]. La dose initiale habituelle est de 5 à 8 mg/kg/j en deux prises, suivie d'une décroissance progressive jusqu'à 3mg/kg par jour pour atteindre une cyclosporinémie à 100 µg/L. La principale toxicité est

rénale et justifie une surveillance régulière de la créatinine. La place de la cyclosporine A dans l'algorithme de la prise en charge des anémies hémolytiques associées à la LLC n'est pas claire. Pour certains auteurs, c'est un traitement de seconde ligne au même titre que le rituximab [75, 76]. Mais pour la majorité, la cyclosporine A, du fait de son délai d'action (délai médian de réponse de 3 semaines) constitue d'avantage un traitement de maintenance ou d'épargne cortisonique [45, 186]. D'autres traitements immunosuppresseurs comme le cyclophosphamide, l'azathioprine ou le mycophenolate mofétil ont été suggérés mais aucune donnée n'est disponible dans la littérature.

- Alemtuzumab

L'alemtuzumab (MabCampath[®]), anticorps monoclonal anti-CD52, a été utilisé avec succès dans l'anémie hémolytique auto-immune associée à la LLC. Son action anti-tumorale en fait également une option intéressante dans le traitement des anémies hémolytiques « complexes », malgré la fréquente survenue d'évènements infectieux graves dus à l'immunodépression lymphocytaire T majeure [100, 107, 151, 154].

A l'heure actuelle, si l'utilisation des corticoïdes en première ligne est consensuelle, le traitement de seconde ligne ne l'est pas, même si le rituximab semble tenir une place importante. La splénectomie est habituellement beaucoup plus tardive que dans l'anémie hémolytique auto-immune idiopathique. Enfin, en cas d'anémie hémolytique « simple » réfractaire à plusieurs lignes thérapeutiques, une immuno-chimiothérapie active sur la LLC doit être proposée.

2.7.3. Traitement de l'anémie hémolytique « complexe »

Tous les auteurs s'accordent sur le fait qu'en cas d'anémie hémolytique associée à une poussée évolutive de la LLC, un traitement actif à la fois sur l'hémolyse et la LLC est indiqué. Le traitement optimal devrait remplir plusieurs objectifs : minimiser le risque d'exacerbation de l'hémolyse, ne pas entraîner de myelosuppression excessive aggravant les cytopénies tout en ayant une action cytotoxique aussi importante que possible sur les cellules tumorales.

- FCR : indication ou contre-indication ?

Le principal point de controverse réside en l'utilisation ou non de la fludarabine comme traitement de l'anémie hémolytique auto-immune. Pour certains auteurs, la fludarabine n'est pas contre-indiquée et un traitement par FCR doit être proposé puisqu'il est actuellement le traitement de la LLC le plus efficace [45, 75, 76]. Pour d'autres, la myélototoxicité pouvant aggraver initialement les cytopénies ainsi que la possible exacerbation de l'hémolyse contre-indiquent formellement ce traitement. Même s'il semble désormais probable qu'une polychimiothérapie comportant de la fludarabine n'augmente pas le risque de déclenchement d'une anémie hémolytique, très peu de données sont disponibles quant à la tolérance et l'efficacité de ce traitement chez des patients présentant une hémolyse active. Les patients avec anémie hémolytique associée à la LLC sont systématiquement exclus des études prospectives, sauf dans une étude monocentrique évaluant l'efficacité du FCR en première ligne. Parmi les 300 patients de cette cohorte, 8 présentaient une anémie hémolytique active au moment de l'initiation du FCR. Une seule aggravation a été décrite, mais seulement deux réponses sur l'hémolyse ont été observées [13].

- Immunochimiothérapie sans fludarabine

Le protocole ChOP LLC (cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine, prednisone) associé ou non au rituximab a été utilisé, mais il n'existe aucune publication dans cette indication.

Un schéma thérapeutique sans anthracyclines, associant le rituximab à un agent alkylant et une corticothérapie, semble intéressant car non myélotoxique et actif sur la LLC. Plusieurs études ont rapporté les résultats de l'association RCD (rituximab, cyclophosphamide, dexaméthasone) [77, 101, 153]. La plus grande série, comportant 48 patients atteints de cytopénies auto-immunes, réfractaires à plusieurs lignes de traitement ou associées à une LLC progressive, a été rapportée en 2010 par Rossignol *et al.* Deux schémas de RCD ont été utilisés, « standard » ou « rapproché », et ont une efficacité similaire. Quarante-trois réponses sur les cytopénies ont été obtenues, dont 40 réponses complètes avec une durée médiane de 24 mois. Le taux de réponse n'est pas significativement différent selon le type de cytopénie auto-immune mais l'obtention d'une réponse complète semble déterminante pour une réponse prolongée. Ce traitement a également permis un taux de réponse sur la LLC de 95%, mais

avec seulement 35% de réponses complètes, et une durée médiane de réponse de 16 mois. Ce protocole, souvent administré à des sujets âgés, est remarquablement toléré [153].

L'utilisation d'un schéma proche, de type R-CVP (rituximab, cyclophosphamide, vincristine, prednisone), a été rapportée par Bowen *et al.*, avec des résultats relativement similaires [14]. Le tableau 9 résume les résultats de ces principales études.

- Alemtuzumab

Enfin, l'utilisation de l'alemtuzumab, anticorps anti-CD152, peut être discutée. Plusieurs cas rapportent son administration avec succès dans cette indication, mais le risque infectieux secondaire à l'immunosuppression liée à la LLC et à la déplétion lymphocytaire induite par le traitement doit être mesuré [100, 107, 151, 154].

Tableau 9. Principales études rétrospectives sur le traitement de l'anémie hémolytique auto-immune « complexe » ou réfractaire

	Caractéristiques de l'étude	Nombre patients	Schéma thérapeutique	Réponse cytopénies	Réponse LLC
Gupta 2002 [77]	Monocentrique AHAI réfractaire ou LLC progressive	8	RCD (1)	8/8 5/8 Coombs - DR 13 mois	Non évaluée
Kaufman 2009 [101]	Monocentrique Cytopénies AI réfractaires ou LLC progressive	21 dont 20 AHA	RCD (1)	21/21 50% Coombs - DR 22 mois	Non évaluée
Bowen 2010 [14]	Monocentrique AHAI + LLC progressive	20 dont 17 AHA	R-CVP (3)	19/20 12 RC, 7 RP TNT 21 mois	17/20 RCC/RC 9, RP 8
Rossignol 2010 [153]	Multicentrique Cytopénies AI réfractaires ou LLC progressive	48 dont 34 AHA	RCD (1) ou (2)	43/48 40 RC, 3 RP DR 24 mois	95% OR, 35% RC DR 16 mois

Coombs - : test de Coombs négatif en fin de traitement, DR : durée médiane de réponse, AI : auto-immune, RC : réponse complète, RCC : réponse clinique complète, OR : réponse globale, RP : réponse partielle, TNT : médiane de temps jusqu'au prochain traitement.

(1) Rituximab 375mg/m² J1, cyclophosphamide IV 750mg/m² J2, dexaméthasone 12mg/j J1 à J7 tous les 28 jours.

(2) Rituximab 375mg/m² J1, cyclophosphamide IV 1000mg J1, dexaméthasone 40mg J1 tous les 14 jours.

(3) Rituximab 375mg/m² J1, cyclophosphamide IV 750mg/m² J1, vincristine 1,4mg/m² (2mg dose maximale) J1, prednisone 40mg/m² J1 à J5 tous les 21 jours.

MATERIEL ET METHODES

1. Patients

Les patients inclus dans cette étude rétrospective multicentrique sont tous atteints de LLC et ont présenté au moins un épisode d'anémie hémolytique auto-immune. Cet épisode dysimmunitaire peut avoir précédé, être contemporain ou postérieur au diagnostic de LLC. Les dossiers ont été proposés par le Professeur Alain Delmer (Hôpital Robert Debré, Reims), le Professeur Pierre Feugier (Hôpital de Brabois, Vandoeuvre les Nancy), le Professeur Florence Ajchenbaum-Cymbalista (Hôpital Avicenne, Bobigny), le Professeur Olivier Fain (Hôpital Jean Verdier, Bondy) et le Docteur Anne-Sophie Michallet (Centre Hospitalier Lyon-Sud, Pierre Bénite). Les données ont été relevées de manière systématique dans les dossiers de chaque malade et la liste des items recensés figure en annexe 2.

2. Critères diagnostiques

2.1. Diagnostic de leucémie lymphoïde chronique

Les critères utilisés pour le diagnostic de LLC sont ceux définis par l'IWCLL en 2008. Le diagnostic est retenu devant une hyperlymphocytose B monoclonale supérieure à $5.10^9/L$ avec un profil immunophénotypique caractéristique : expression des antigènes CD5, CD19, CD20, CD23, CD79b (faible intensité) et d'une immunoglobuline de surface monotypique kappa ou lambda (faible intensité) [81].

2.2. *Diagnostic d'anémie hémolytique auto-immune*

Les critères diagnostiques proposés par Ding *et al.* et qui associent la présence d'au moins un marqueur d'hémolyse et des arguments en faveur d'une origine auto-immune ont été utilisés pour retenir le diagnostic d'anémie hémolytique [50]. Ces critères ont été précédemment résumés dans le tableau 6 (page 39).

3. **Traitements de l'anémie hémolytique auto-immune**

De très nombreux schémas thérapeutiques ont été employés pour le traitement de l'anémie hémolytique. Afin de permettre l'analyse statistique, ces divers schémas ont été regroupés en 7 catégories qui sont définies dans le tableau 10. Les principaux protocoles thérapeutiques sont détaillés en annexe 3.

4. **Réponse au traitement**

Deux types de réponse aux différents traitements mis en œuvre ont été définis pour chaque patient en séparant la réponse de l'hémopathie lymphoïde (LLC) de la réponse de l'anémie hémolytique auto-immune par elle même.

4.1. *Réponse de la leucémie lymphoïde chronique au traitement*

Les critères de réponse retenus sont détaillés dans le tableau 11. Ces critères sont dérivés de ceux proposés par l'IWCLL [81] car la grande majorité des patients n'a pas eu d'évaluation médullaire en fin de traitement. La réponse complète correspond donc à la réponse clinique complète selon l'IWCLL.

Tableau 10. Regroupement des schémas thérapeutiques utilisés.

Groupes de traitement	
Groupe 1 : corticoïdes (CTC) en monothérapie	
Groupe 2 : groupe RCD	RCD quel que soit le schéma employé RCD + corticothérapie continue
Groupe 3 : groupe ChOP LLC	ChOP LLC R-ChOP LLC ChOP LLC + corticothérapie continue R-ChOP LLC + corticothérapie continue COP
Groupe 4 : groupe alemtuzumab	alemtuzumab alemtuzumab + corticothérapie continue alemtuzumab + dexaméthasone séquentielle
Groupe 5 : groupe rituximab (sans chimiothérapie)	rituximab monothérapie rituximab + corticothérapie continue
Groupe 6 : groupe « immunosuppression »	cyclosporine cyclophosphamide azathioprine mycophénolate mofétil association des différents immunosuppresseurs +/- corticothérapie continue
Groupe 7 : autres	chlorambucil + corticothérapie continue bendamustine + rituximab immunoglobulines polyvalentes seules ou en association splénectomie danatrol ofatumumab

Tableau 11. Critères de réponse au traitement de la LLC

	Réponse Complète (RC)	Réponse Partielle (RP)	Maladie Progressive (MP)
Adénopathies	Absence ou < 1,5 cm	Diminution $\geq 50\%$	Augmentation $\geq 50\%$
Hépatomégalie Splénomégalie	Absence	Diminution $\geq 50\%$	Augmentation $\geq 50\%$
Lymphocytose	< $4.10^9/L$	Diminution $\geq 50\%$	Augmentation $\geq 50\%$
Taux d'hémoglobine	> 110 g/L	> 110 g/L ou augmentation $\geq 50\%^*$	Diminution $\geq 50\%$ (due à la LLC)
Taux de plaquettes	> $100.10^9/L$	> $100.10^9/L$ ou augmentation $\geq 50\%^*$	Diminution $\geq 50\%$ (due à la LLC)
Taux de PNN	> $1,5.10^9/L$	> $1,5.10^9/L$ ou augmentation $\geq 50\%^*$	/

RC : tous les critères doivent être réunis ;

RP : un seul critère de récupération hématologique (*) nécessaire ;

MP : présence d'un seul critère suffisante ;

Maladie stable (MS) : absence de critère pour une maladie progressive et réponse inférieure à la réponse partielle.

4.2. Réponse de l'anémie hémolytique auto-immune au traitement

Pour l'anémie hémolytique auto-immune, la définition de la réponse n'est pas consensuelle et est variable selon les études. Dans certaines d'entre elles, le retour à un taux d'hémoglobine supérieur à 120 g/L suffit à définir une réponse de complète, alors que dans d'autres, la négativité du test de Coombs et des marqueurs d'hémolyse est requise. Nous avons évalué la réponse de l'AHAI en utilisant les critères définis dans trois travaux récents qui sont résumés dans le tableau 12 [123, 153, 184]. Les taux de réponse observés selon ces différentes définitions ont ensuite été comparés afin d'apprécier leur concordance.

La réponse de l’AHAI a été évaluée et comparée selon les groupes de traitements. Pour cette partie de l’analyse, nous avons choisi d’appliquer les critères de Zent *et al.* afin de s’affranchir du problème des données manquantes.

La durée de réponse de l’anémie hémolytique auto-immune a été définie par l’intervalle entre le début du traitement et la nécessité d’une nouvelle ligne thérapeutique ou le décès du patient.

Tableau 12. Critères de réponse de l’anémie hémolytique auto-immune

	Rossignol <i>et al.</i> [123]	Mauro <i>et al.</i> [153]	Zent <i>et al.</i> [184]
Réponse complète (RC)	Hb > 120 g/L LDH normales « Réticulocytes normaux »	Hb > 120 g/L Absence d’anticorps anti-érythrocytes	Hb > 120 g/L
Réponse partielle (RP)	Hb < 120 g/L avec augmentation Hb > 20 g/L et/ou LDH ou réticulocytes élevés	Hb < 120 g/L avec augmentation Hb > 20 g/L Et/ou présence d’anticorps anti-érythrocytes	Hb > 100 g/L

Echec du traitement : dépendance transfusionnelle ou réponse inférieure à la réponse partielle.

5. Analyse statistique

Toutes les données recueillies ont été colligées dans un tableur Microsoft Access. Les analyses statistiques ont été réalisées en collaboration avec Mr Marouane Boubaya (Unité de Recherche Clinique, hôpital Avicenne, Bobigny) à l’aide des logiciels SAS et GraphPad Prism.

La méthode du tri à plat a été utilisée pour décrire les variables qualitatives, qui sont exprimées en nombre de données pour chaque modalité et en pourcentage.

Les valeurs quantitatives sont décrites par leur médiane ainsi que les valeurs minimales et maximales (rapportées entre parenthèses).

Les variables qualitatives appariées comportant plus de deux modalités ont été comparées par un test Q de Cochran. En cas de différence significative, elles ont été comparées deux à deux par des tests de symétrie (test du Chi-2) auxquels un coefficient de correction de Bonferroni a été appliqué.

Les variables qualitatives non appariées ont été comparées par un test de Chi-2 ou un test exact de Fisher (en présence de faibles effectifs).

Les courbes de survie et de durée de réponse ont été calculées grâce à la méthode de Kaplan-Meier et comparées avec un test de log-rank.

RESULTATS

1. Caractéristiques des patients

Quarante huit patients ont été inclus dans cette étude. Pour ces patients, le diagnostic de LLC a été posé entre janvier 1987 et janvier 2011. Le délai médian de suivi est de 76 mois (2,5 à 292 mois). Soixante pour cent des patients sont des hommes et 40% des femmes. Le tableau 13 détaille la répartition des patients selon les centres.

Tableau 13. Répartition des patients selon les centres

Centre	Nombre de patients (%)
Total	48 (100%)
Bobigny + Bondy	19 (39%)
Lyon	6 (13%)
Nancy	11 (23%)
Reims	12 (25%)

2. Caractéristiques de la leucémie lymphoïde chronique

2.1. Caractéristiques de la leucémie lymphoïde chronique au diagnostic

L'âge médian des patients au moment du diagnostic de LLC est de 63 ans (39 à 82 ans). Soixante-deux pour cent des patients présentaient une LLC de stade A, 17% une LLC de stade B et 21% une LLC de stade C selon la classification de Binet. Parmi les 10 patients classés en stade C, neuf l'étaient du fait d'une AHAI dès le diagnostic de l'hémopathie. La lymphocytose médiane au diagnostic était de $22,1 \cdot 10^9/L$, le taux d'hémoglobine de 127 g/L et le taux de plaquettes de $206 \cdot 10^9/L$. Le test de Coombs direct était disponible pour 30 patients et positif chez 13 patients. Le tableau 14 détaille les caractéristiques notre cohorte lors de la présentation initiale.

Tableau 14. Caractéristiques clinico-biologiques au diagnostic de la LLC

	N (%) ou médiane (min-max)
Age médian (années)	63 (39-82)
Sexe	
Masculin	29/48 (60%)
Féminin	19/48 (40%)
Hémogramme :	
Hémoglobine (g/L)	127 (56-153)
Plaquettes (10 ⁹ /L)	206 (1-489)
Leucocytes (10 ⁹ /L)	31,3 (7,1-415)
Lymphocytes (10 ⁹ /L)	22,1 (0,9-398)
PNN (10 ⁹ /L)	5,85 (2-20)
Réticulocytes (10 ⁹ /L)	75 (46-417)
Score RMH (Matutes)	
5	33/42 (79%)
4	8/42 (19%)
3	1/42 (2%)
Isotype	
κ	21/31 (68%)
λ	10/31 (32%)
Stade de Binet	
A	29/47 (62%)
B	8/47 (17%)
C	10/47 (21%)
Adénopathies	
Présence	24/46 (52%)
Diamètre maximal (cm)	1 (0-5)
Splénomégalie	8/44 (18%)
Electrophorèse des protéines sériques	
γ-globulines (g/L)	7,5 (3,5-15,7)
Pic monoclonal	2/27 (7%)
LDH élevées	16/31 (52%)
Test de Coombs direct positif	13/30 (43%)
Performance status (ECOG)	
0	26/33 (79%)
1	5/33 (15%)
2	1/33 (3%)
3	1/33 (3%)

2.2. Facteurs pronostiques biologiques de la leucémie lymphoïde chronique

Tous les facteurs pronostiques ne sont pas disponibles pour chaque patient. Si une étude cytogénétique a été réalisée pour la majorité des malades (cytogénétique conventionnelle : 63% et/ou FISH : 58 à 75% selon le nombre de sondes utilisées), l'étude de l'expression de Zap-70 n'est disponible que dans 31% des cas.

De nombreux patients issus de cette cohorte présentent des facteurs pronostiques défavorables : expression du CD38 chez 69% des patients pour lesquels l'analyse est disponible, expression de Zap-70 dans 80% des cas, gènes des IgVH « non mutés » dans 75% des cas. L'utilisation par les lymphocytes du répertoire VH4 du gène des IgVH est constante chez les patients du groupe « muté ». Dans le groupe « non muté », on retrouve une utilisation exclusive des répertoires VH1 (n=9), notamment VH1-69 (n=6) et VH3 (n=9).

La cytogénétique conventionnelle a permis la détection d'anomalies chez 66% et la FISH chez 70% des patients testés. Par FISH, la présence d'une délétion 13q a été mise en évidence chez 56% des patients, alors que seulement 3 patients (11%) présentaient une trisomie 12 et 2 patients (7%) une délétion 17p. En revanche, une délétion 11q a été retrouvée chez 33% des patients. Le tableau 15 résume l'analyse des facteurs pronostiques.

2.3. Traitement de la LLC avant la survenue de l'anémie hémolytique

Dix-huit patients ont reçu au moins une ligne de traitement spécifique de la LLC avant le déclenchement de l'AHAI. Pour ces patients, le délai médian entre le diagnostic de LLC et l'initiation du traitement est de 18 mois (0 à 76 mois).

Les schémas thérapeutiques les plus utilisés en première ligne ont été le chlorambucil (n=8), les associations contenant de la fludarabine (n=5) et le ChOP LLC (n=4). Le traitement de première ligne a permis l'obtention de 7 réponses complètes (39%) et de 7 réponses partielles (39%), la durée médiane de réponse était de 24 mois.

Les traitements reçus avant l'épisode d'anémie hémolytique auto-immune sont détaillés dans le tableau 16. Au total, neuf patients ont reçu de la fludarabine avant de développer une AHAH (FCR n=6, FC n=2, F n=1). L'AHAI « post-fludarabine » est définie comme une AHAH qui

survient pendant ou dans les 6 mois suivant le traitement par fludarabine. Dans notre cohorte, 4 patients répondent à cette définition (FCR n=3, FC n=1).

Au total, parmi les 18 patients, 11 ont reçu au moins une ligne de traitement contenant une molécule ou une association qui auraient pu être proposées à la même période comme traitement d'une AHAI compliquant une LLC (rituximab, alemtuzumab ou ChOP LLC).

Tableau 15. Facteurs pronostiques biologiques

Facteur pronostique	Nombre de patients (%)
B2-microglobuline élevée au diagnostic	5/14 (36%)
CD38 positif *	22/32 (69%)
Zap-70 positif	12/15 (80%)
Caryotype	
normal	10/30 (33%)
del 11q	9/30 (30%)
del 13q	7/30 (23%)
del 17p	1/30 (3%)
tri 12	2/30 (7%)
del 6q	1/30 (3%)
autres anomalies	9/30 (30%)
FISH	
del 11q	9/29 (33%)
del 13q	14/26 (56%)
del 17p	2/30 (7%)
tri 12	3/28 (11%)
Statut mutationnel des gènes des IgVH	
« non muté »	21/28 (75%)

* CD38 positif : expression du CD38 dans plus de 7% des cellules doublement marquées CD5 et CD19

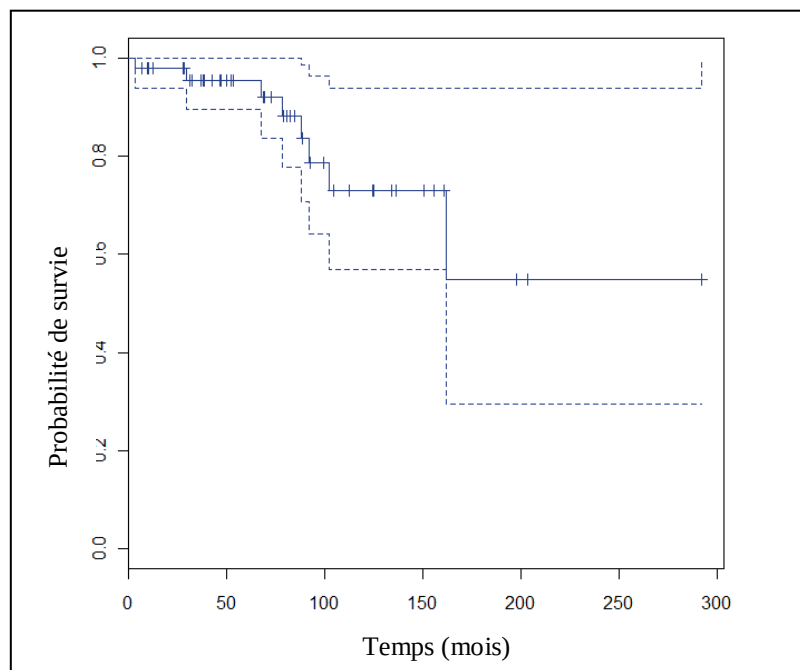
Tableau 16. Traitement de la LLC avant la survenue de l'AHAI

	Nombre de patients (%)
Lignes de traitement	
Aucune	30 (63%)
1	10 (21%)
2	6 (12%)
3	2 (4%)
Traitements reçus *	
Chlorambucil	10
ChOP LLC	4
FCR/FC/F	9
PCR	1
R-Alemtuzumab	1
Rituximab	1
Autogreffe	2

* Traitement de première intention ou lignes ultérieures

2.4. Survie depuis le diagnostic de leucémie lymphoïde chronique

La médiane de suivi de cette cohorte est de 76 mois. La médiane de survie globale n'est pas atteinte. Quatorze patients étaient décédés au moment du recueil de données (figure 4)

**Figure 4. Survie globale depuis le diagnostic de LLC**

3. Anémie hémolytique auto-immune

3.1. *Caractéristiques clinico-biologiques*

L'âge médian au diagnostic d'anémie hémolytique auto-immune est de 67 ans (39 à 85 ans).

Le diagnostic d'AHAI a été contemporain ou postérieur au diagnostic de LLC pour 47 des 48 patients. Une seule malade atteinte d'anémie hémolytique auto-immune considérée initialement comme idiopathique a développé cinq ans et demi plus tard une hyperlymphocytose. En dehors de l'atteinte dysimmunitaire chronique ayant nécessité jusqu'à 10 lignes de traitement (principalement des combinaisons d'immunosuppresseurs et une splénectomie), la LLC n'a jamais évolué par elle-même. Parmi les 47 autres patients, l'anémie hémolytique a été révélatrice de la maladie dans 9 cas (19%) et est survenue au cours de l'évolution chez 38 patients avec un délai médian de 47 mois (3 à 257 mois).

Le taux d'hémoglobine médian au diagnostic d'AHAI était de 67 g/L. Le Coombs direct était positif dans la très grande majorité des cas (96%), le plus souvent de type IgG + C3d (55%) ou IgG seul (36%). Pour les 3 patients qui présentaient un test de Coombs direct positif de type complément seul et ceux dont le test de Coombs direct était négatif, les résultats de la recherche d'agglutinines froides n'ont pas pu être retrouvés. Les signes biologiques d'hémolyse étaient le plus souvent francs. Les LDH étaient quasiment toujours élevées et l'haptoglobine effondrée (respectivement 98 et 93%), alors que la bilirubine n'était supérieure à la norme que dans 71% des cas. Le tableau 17 expose les données clinico-biologiques au moment de la survenue de l'AHAI.

Aucun patient ne présentait d'antécédent dysimmunitaire patent. Quatre malades ont présenté une thrombopénie immunologique, concomitante de l'AHAI dans un cas et dissociée dans les autres, répondant à la définition du syndrome d'Evans. Deux autres patients ont développé par la suite une érythroblastopénie auto-immune.

La figure 5 représente la courbe de survie globale à partir du diagnostic de l'hémolyse auto-immune. Le recul médian est de 27 mois (1 à 162 mois)

Tableau 17. Données clinico-biologiques au diagnostic d'AHAI

	N (%) ou Médiane (min-max)
Age médian (années)	67 (39-85)
Délai médian depuis le diagnostic de LLC (mois)	30 (0-257)
Hémogramme :	
Hémoglobine (g/L)	67 (33-114)
VGM (fl)	103(78-177)
Plaquettes (10 ⁹ /L)	177 (1-355)
Leucocytes (10 ⁹ /L)	65,7 (0,3-412,5)
Lymphocytes (10 ⁹ /L)	65 (0,1-375)
Réticulocytes (10 ⁹ /L)	155,5 (8-417)
Stade de Binet	
A	1/47 (2%)
B	1/47 (2%)
C	45/47 (96%)
Adénopathies	
Présence	30/47 (64%)
Diamètre médian	1/47 (0-6)
Splénomégalie	17/46 (37%)
Test de Coombs positif	45/47 (96%)
Type	
IgG	12/33 (36%)
C3d	3/33 (9%)
IgG + C3d	18/33 (55%)
LDH	
LDH élevées	43/44 (98%)
Taux médian (x VSN)	2 (1-8,6)
Bilirubine	
Bilirubine élevée	29/41 (71%)
Taux médian (x VSN)	1,4 (1-9,5)
Haptoglobine	
Abaissée	43/46 (93%)
Electrophorèse des protéines sériques	
γ-globulines (g/L)	5 (0,4-13,3)
Présence d'un pic monoclonal	3/25 (12%)

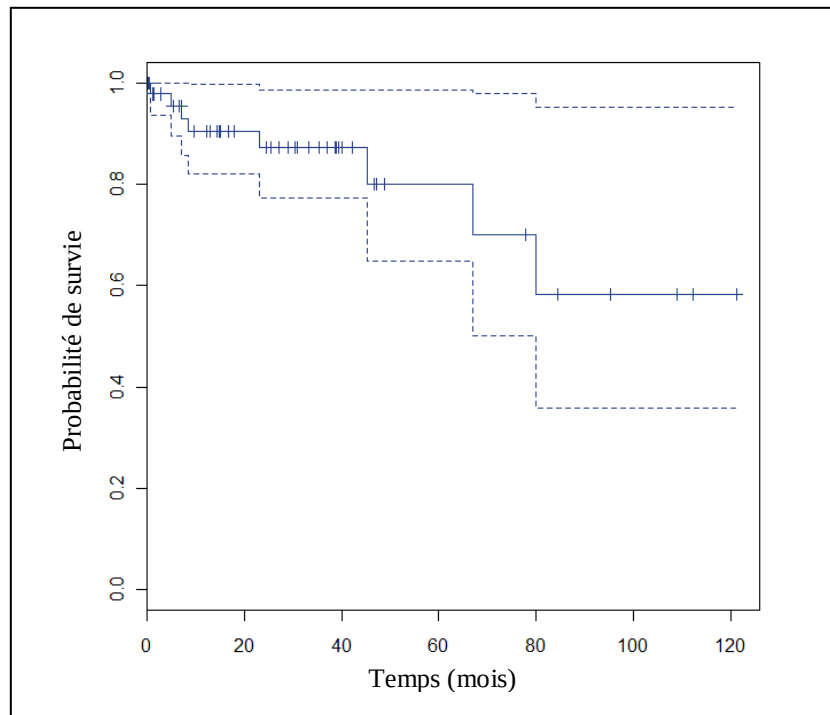


Figure 5. Survie globale depuis le diagnostic d’AHAI

3.2. AHAI « simple » et AHAI « complexe »

Au moment de la survenue de l’anémie hémolytique auto-immune, 22 patients présentaient une LLC stable. Pour les 26 autres patients, l’anémie hémolytique était concomitante d’une poussée évolutive de la LLC. Nous avons souhaité comparer la survie des patients présentant une AHAI « complexe » à celle des patients présentant une AHAI « simple ». La survie à 5 ans à partir de la survenue de l’AHAI est de 95% [IC 95% : 85-100] en cas d’AHAI « simple » et de 72% [IC 95% : 51-99] en cas d’AHAI « complexe ». Cette différence n’est pas significative ($p=0,17$), comme l’illustre la figure 6.

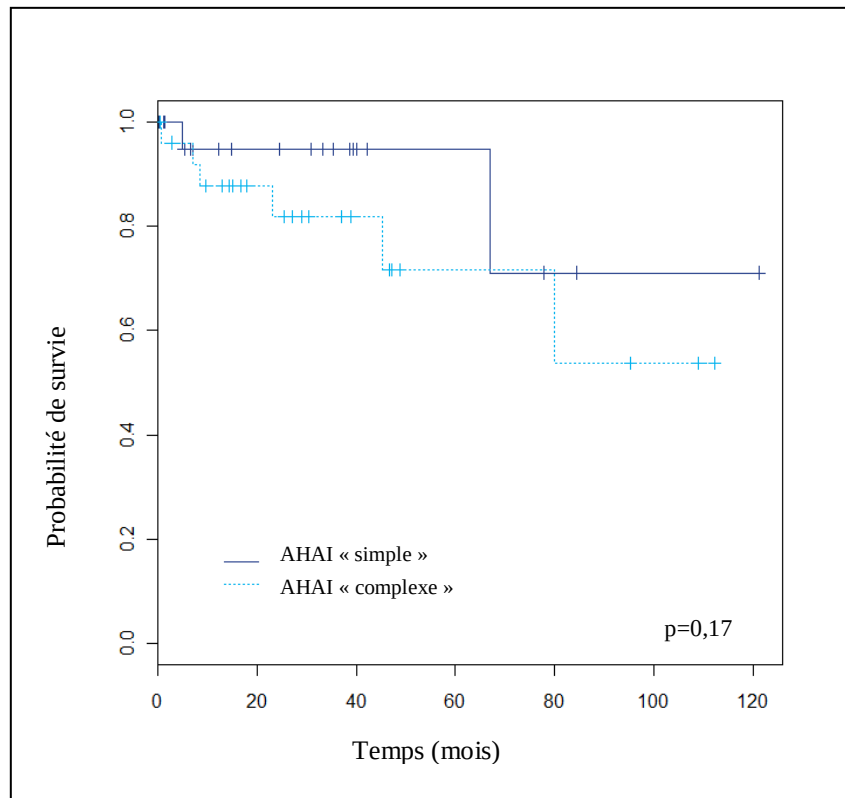


Figure 6. Courbe de survie globale comparative des AHAI simples et complexes depuis le diagnostic d'AHAI

3.3. Traitements de l'anémie hémolytique auto-immune

Du fait de la sévérité de l'anémie liée à l'hémolyse, 25 patients (52%) ont reçu au moins une transfusion érythrocytaire.

Seulement trente-six pour cent des patients n'ont reçu qu'une ligne de traitement pour l'AHAI (certains d'entre eux ont pu recevoir un traitement ultérieur justifié par l'évolutivité de l'hémopathie sans rechute de l'hémolyse). Trente trois pour cent ont reçu deux lignes et 31% au moins trois lignes de traitement.

Dans cette cohorte, l'utilisation des corticoïdes a été quasi-constante. En première intention, 47 des 48 patients ont reçu une corticothérapie seule ou en association à une immunothérapie, une chimiothérapie ou des immunosuppresseurs. Chez 43 de ces patients, la corticothérapie a été administrée en continu. La dose médiane initiale était de 1 mg/kg/j (1 à 2 mg/kg/j), la

durée médiane de pleine dose de 4 semaines (1 à 12 semaines) et la durée médiane de traitement de 5 mois (9 jours à 8 ans).

Le traitement de deuxième ligne est majoritairement composé d'immunothérapie (rituximab, alemtuzumab), de chimiothérapie (ChOP LLC) et d'immuno-chimiothérapie (R ChOP LLC, RCD). Parmi les 31 patients pour lesquels l'AHAI a nécessité au moins deux lignes thérapeutiques, 16 ont reçu un deuxième traitement immédiatement après la première ligne (échec ou réponse jugée insuffisante). Pour les 15 autres patients, une deuxième ligne a été instaurée en raison d'une rechute de l'AHAI, après un délai médian de 11 mois (1 à 49 mois).

Deux patients ont été splénectomisés, tous tardivement dans l'évolution de l'AHAI (5^{ème} ligne). Dans les deux cas, la splénectomie n'a pas permis la résolution de l'anémie hémolytique auto-immune.

Quatre patients ont reçu des perfusions d'immunoglobulines polyvalentes directement motivées par l'anémie hémolytique auto-immune. La dose administrée était de 1g/kg/j, pendant deux jours consécutifs. Ces immunoglobulines ont toujours été utilisées en association avec d'autres traitements et il est donc impossible d'en apprécier l'intérêt. Par ailleurs, de nombreux patients ont également reçu des immunoglobulines polyvalentes pour une hypogammaglobulinémie sévère associée à des infections récurrentes. Les doses utilisées dans cette indication sont moindres (20 à 30 grammes toutes les 3 semaines) et ces traitements n'ont pas été colligés.

Une seule chimiothérapie de type FCR a été initiée chez un patient présentant une AHA active. Ce traitement a été interrompu après la première cure devant la persistance de l'hémolyse et remplacé par une association de type RCD.

Le tableau 18 détaille les différents traitements prescrits.

Tableau 18. Traitements de l'anémie hémolytique auto-immune

Nombre de patients	
Nombre de lignes de traitement	
1	17 (36%)
2	16 (33%)
3	7 (15%)
4	3 (6%)
5	1 (2%)
6	3 (6%)
10	1 (2%)
Traitements reçus (n=115) *	
Corticothérapie seule	32
Groupe RCD	18
Groupe CHOP	15
Groupe alemtuzumab	7
Groupe rituximab	14
Immunosuppresseurs	11
autres	18
1^{ère} ligne de traitement (n=48)	
Corticothérapie seule	27 (56%)
Groupe RCD	4 (8%)
Groupe CHOP	6 (13%)
Groupe alemtuzumab	3 (7%)
Groupe rituximab	5 (10%)
Immunosuppresseurs	1 (2%)
autres	2 (4%)
2^{ème} ligne de traitement (n=31)	
Corticothérapie seule	4 (8%)
Groupe RCD	8 (17%)
Groupe CHOP	4 (8%)
Groupe alemtuzumab	1 (2%)
Groupe rituximab	4 (8%)
Immunosuppresseurs	2 (4%)
autres	8 (17%)

* Traitement de première intention ou lignes ultérieures

3.4. Evaluation des critères de réponse de l'anémie hémolytique auto-immune

La réponse de l'AHAI au traitement a été systématiquement évaluée en utilisant les critères proposés par Rossignol *et al.*, Zent *et al.* et Mauro *et al.* (tableau 12 page 57).

Au total, 115 lignes de traitements ont été analysées compte tenu des traitements successifs reçus par la majorité des 48 patients. En raison de données manquantes, la comparaison des différents critères de réponse n'a été effectuée que sur 70 traitements. Les résultats sont colligés dans le tableau 19.

Tableau 19. Taux de réponse de l'AHAI selon les différents critères (n=70)

Critères	Rossignol <i>et al.</i> N (%)	Mauro <i>et al.</i> N (%)	Zent <i>et al.</i> N (%)
Réponse globale (RP + RC)	39 (56%)	43 (61%)	43 (61%)
Réponse complète (RC)	19 (27%)	9 (13%)	25 (35%)
Réponse partielle (RP)	20 (29%)	34 (48%)	18 (26%)
Echec	31 (44%)	27 (39%)	27 (39%)

Pour la réponse globale, aucune différence significative n'est observée quels que soient les critères utilisés.

En revanche, il existe une différence significative entre les 3 critères pour l'évaluation de la réponse complète ($p=0,0001$). Ce taux de réponse complète est très inférieur si on utilise la définition proposée par Mauro *et al.*, qui impose un test de Coombs direct négatif en fin de traitement. Le tableau 20 illustre la comparaison deux à deux des différents critères.

Tableau 20. Test de symétrie entre les différents critères de réponse complète

		Mauro			
		Echec	RP	RC	Total
Rossignol	Echec	27	4	0	31
	RP	0	18	2	20
	RC	0	12	7	19
	Total	27	34	9	70

p=0,03

		Zent			
		Echec	RP	RC	Total
Rossignol	Echec	27	4	0	31
	RP	0	14	6	20
	RC	0	0	19	19
	Total	27	18	25	70

p=0,058

		Zent			
		Echec	RP	RC	Total
Mauro	Echec	27	0	0	27
	RP	0	18	16	34
	RC	0	0	9	9
	Total	27	18	25	70

p=0,018

3.5. Réponse de l'anémie hémolytique auto-immune

Les critères de réponse définis par *Zent et al.* ont été retenus pour cette analyse. Ce sont ceux qui permettent l'exploitation du plus grand nombre de dossiers.

La corticothérapie seule (monothérapie) a permis d'obtenir une réponse globale sur l'anémie hémolytique dans 79% des cas, et une réponse complète dans 57% des cas. Après rituximab (associé ou non aux corticoïdes), le taux de réponse globale observé est de 80% et le taux de réponse complète de 73%. L'immuno-chimiothérapie de type RCD ainsi que le ChOP LLC plus ou moins rituximab induisent respectivement un taux de réponse globale de 66 et 74%. Après alemtuzumab seul ou en association à une corticothérapie la réponse globale obtenue est de 72%, mais des complications infectieuses sévères ont été observées (aspergillose pulmonaire, réactivation CMV). Le taux de réponse après traitement par immunosuppresseurs est faible (18%). L'ensemble des résultats est colligé dans le tableau 21.

Les taux de réponses obtenus au sein des différents groupes de traitement tels que nous les avons définis ont été comparés de façon globale. La réponse de l'anémie hémolytique est significativement différente entre les groupes, que ce soit en terme de réponse globale ou de réponse complète (respectivement $p=0,027$ et $0,032$) mais il n'a pas été possible de les comparer individuellement deux à deux du fait du faible effectif de chaque groupe.

Tableau 21. Réponses aux différents traitements de l'AHAI

	Groupe CTC	Groupe RCD	Groupe CHOP	Groupe Campath	Groupe R	Groupe IS	Groupe « autre »
Nombre de traitements réalisés	32	18	15	7	14	11	18
Traitement							
Durée (mois)	5,3					5,5	/
(min-max)	(0,3-94)					(1-40)	
Nombre de cures		6	6	9*	4		/
(min-max)		(1-7)	(1-12)	(4-12)	(1-4)		
Réponse AHA1							
Réponse globale	25 (79%)	12 (66%)	11 (74%)	5 (72%)	11 (79%)	2 (18%)	6 (33%)
RC	18 (57%)	10 (56%)	10 (67%)	3 (43%)	10 (72%)	1 (9%)	2 (11%)
RP	7 (22%)	2 (11%)	1 (7%)	2 (29%)	1 (7%)	1 (9%)	4 (22%)
Echec	6 (19%)	4 (22%)	2 (13%)	1 (14%)	2 (14%)	4 (36%)	8 (45%)
Non déterminé	1 (2%)	2 (11%)	2 (13%)	1 (14%)	1 (7%)	5 (46%)	4 (22%)

* Pour l'alemtuzumab (Campath ®), une cure correspond à une semaine de traitement avec 3 injections.

Pour l'ensemble des 115 épisodes d'AHAI, la durée médiane de réponse est de 11 mois. A titre indicatif, la figure 7 représente les durées de réponse en fonction des différents groupes, même s'il n'existe globalement pas de différence statistiquement significative ($p=0,5$). La durée médiane de réponse est de 11 mois pour le groupe corticoïdes seuls et de 40 mois pour le groupe ChOP LLC. Elle n'est pas atteinte pour le groupe RCD, dont l'utilisation est plus récente et le recul plus limité. Si l'analyse est restreinte au premier épisode d'AHAI, les courbes de survie sans rechute de l'hémolyse sont superposables (figure 8).

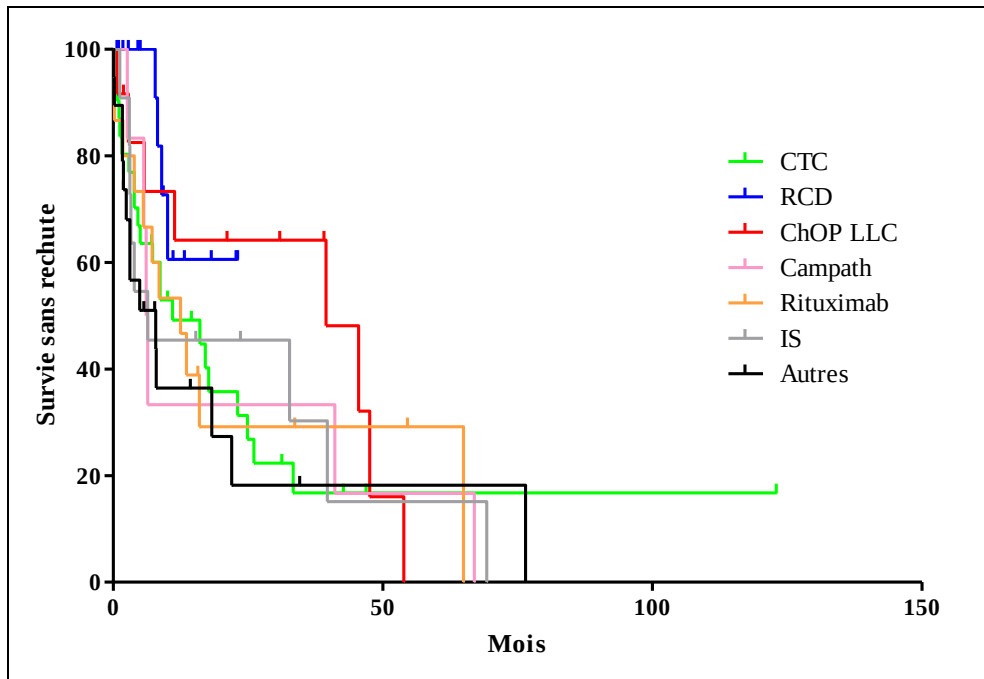


Figure 7. Durée de réponse de l'AHAI en fonction des différents groupes de traitement (traitement de première intention ou lignes ultérieures)

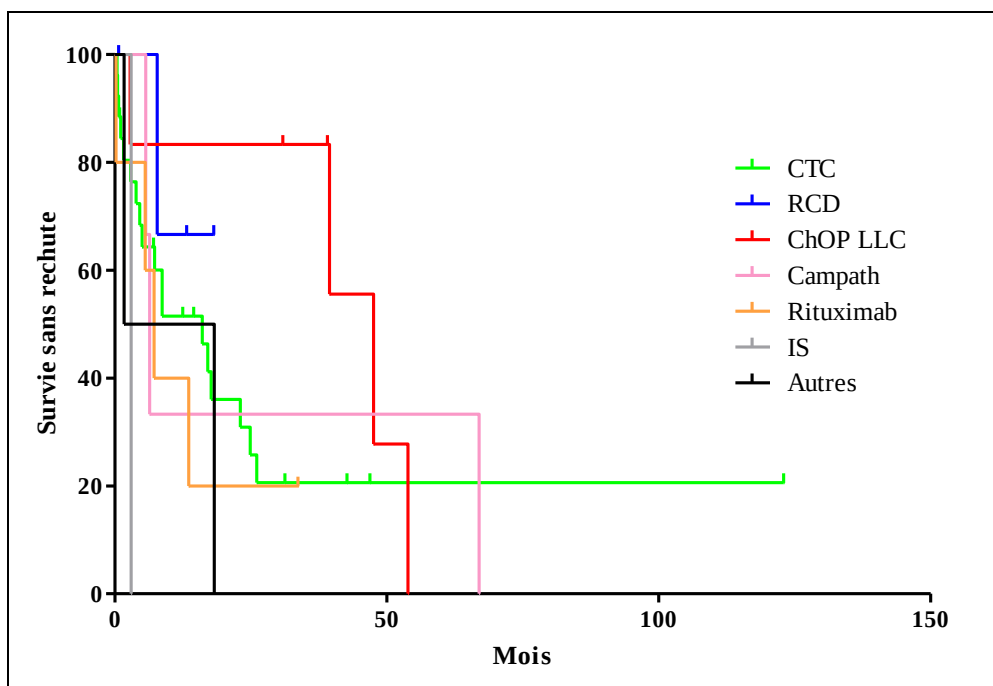


Figure 8. Durée de réponse de l'AHAI au traitement de première ligne en fonction des différents groupes de traitement

3.6. Réponse de la leucémie lymphoïde chronique

Cette analyse a été volontairement restreinte à la réponse de la LLC au seul traitement de première ligne pour l'AHAI en raison des difficultés à retrouver dans les dossiers une date même approximative des reprises évolutives ultérieures de l'hémopathie.

Après corticothérapie seule, le taux de réponse globale est de 74% et le taux de réponse complète seulement de 11%. Les faibles effectifs de chacun des autres groupes de traitement ne permettent pas une interprétation fiable des résultats qui sont détaillés dans le tableau 22. Le taux de réponse globale oscille entre 50 et 100% et le taux de réponse clinique complète varie de 25 à 67% dans les groupes comportant du rituximab et/ou de la chimiothérapie.

4. Tableau 22. Réponses de la LLC aux traitements de première ligne de l'AHAI

	Groupe CTC	Groupe RCD	Groupe CHOP	Groupe Campath	Groupe R	Groupe IS	Groupe « autre »
Nombre de traitements réalisés	27	4	6	3	5	1	2
Réponse LLC							
Réponse globale	20 (74%)	2 (50%)	5 (83%)	3 (100%)	3(60%)	1 (100%)	1(50%)
RC	3 (11%)	1 (25%)	4 (67%)	0	2 (40%)	0	0
RP	17 (63%)	1 (25%)	1 (17%)	3 (100%)	1 (20%)	1 (100%)	1 (50%)
MS	5 (19%)	1 (25%)	0	0	1 (20%)	0	1 (50%)
progression	0	0	0	0	1 (20%)	0	0
Non évaluable *	2 (7%)	1 (25%)	1(17%)	0	0	0	0

*En cours de traitement au moment du recueil de données ou patient perdu de vue

DISCUSSION

La leucémie lymphoïde chronique est compliquée d'anémie hémolytique auto-immune dans environ 5% des cas. Dans ce contexte d'hémopathie lymphoïde, la prise en charge thérapeutique de l'AHAI n'est pas consensuelle et de nombreuses options peuvent être envisagées. L'objectif de ce travail était de colliger le plus grand nombre possible d'observations afin de définir les caractéristiques des LLC se compliquant d'AHAI, d'évaluer les modalités de prise en charge de ces anémies hémolytiques auto-immunes dans 4 centres de référence sur la LLC et d'essayer de définir une attitude thérapeutique la plus adaptée possible. Le recrutement des patients n'est probablement pas exhaustif et quelques données sont forcément manquantes dans une étude rétrospective. Néanmoins 48 dossiers informatifs ont pu être exploités pour ce travail.

Dans notre cohorte, l'âge médian des patients au moment du diagnostic de LLC est de 62 ans, alors qu'il est habituellement de 70 à 72 ans. Dans d'autres études rétrospectives sur le même thème, l'âge médian au diagnostic est compris entre 66 et 70ans [6, 130, 185]. Le ratio entre les hommes et les femmes est de 1,5 homme pour une femme, ce qui correspond au ratio décrit dans la LLC en général. La prédominance masculine plus marquée décrite dans certaines études [123, 185] n'est pas retrouvée ici. La découverte de la LLC s'est faite de façon fortuite dans la plupart des cas, et 62% des patients présentaient un stade A de la classification de Binet. En dehors de l'âge, les données cliniques de nos patients au diagnostic sont similaires à celle des autres cohortes de patients de stade identique.

L'ensemble des facteurs pronostiques n'est pas disponible pour tous les patients, et ceci est aisément explicable. Tout d'abord, certains diagnostics de LLC sont parfois très anciens et plusieurs paramètres pronostiques n'étaient pas encore décrits. De plus, très peu de patients ont été inclus dans des essais thérapeutiques et encore à ce jour, l'évaluation complète des facteurs pronostiques cytogénétiques et moléculaires n'est pas recommandée en routine

(référentiels de la SFH). Toutefois, les principaux paramètres sont disponibles pour un certain nombre d'observations (n=15 pour Zap-70 ; n=28 pour le statut mutationnel du gène des IgVH). La grande majorité des patients a des caractéristiques défavorables. L'expression du CD38 est retrouvée chez 69% des cas et celle de Zap-70 est positive dans 80% des cas. Soixante-quinze pour cent des patients ont un profil « non muté » du gène des IgVH. Ces résultats sont concordants avec les données récemment publiées sur le sujet. L'utilisation préférentielle des répertoires VH1 et VH3 des gènes des IgVH chez les patients présentant une LLC compliquée de cytopénies auto-immunes a déjà été remarquée dans deux études portant sur 12 et 20 patients [60, 172], et nous la confirmons sur cette cohorte.

Plus de la moitié des patients ont eu une étude cytogénétique par FISH. La fréquence des délétions 13q, 17p et de la trisomie 12 n'est pas différente de celle rapportée dans la littérature. En revanche, l'incidence de la délétion 11q semble importante, puisque détectée chez 33% des patients dans notre série. La même constatation a été faite dans deux études récentes. Dans celle de Bowen *et al.* qui rapportait l'efficacité d'un traitement par R-CVP chez 20 patients LLC avec une AHAI, l'incidence de la délétion 11q était significativement supérieure dans le groupe AHAI par rapport au groupe LLC sans AHAI (39% contre 14%, p=0,03) [14]. Dans l'étude rétrospective de Rossignol *et al.*, une délétion 11q était retrouvée par FISH chez 23% des patients [153]. De façon singulière, la délétion 11q n'est pas associée dans notre série à des formes particulièrement tumorales.

A ce jour, aucun facteur déclenchant de l'anémie hémolytique n'a été identifié de façon formelle mais le rôle de la chimiothérapie a été régulièrement débattu. Dans notre cohorte, seuls 18 patients avaient reçu une ou plusieurs lignes de chimiothérapie avant la survenue de l'AHAI. Divers médicaments et schémas ont été utilisés, reflétant l'évolution des recommandations thérapeutiques durant les 20 dernières années. En l'absence de population témoin, il est impossible de statuer sur l'imputabilité d'une molécule ou d'une association particulières, même si quatre patients ont présenté une anémie hémolytique post-fludarabine. Le fait que 63% des patients n'aient reçu aucun traitement spécifique de la LLC au moment de l'épisode d'AHAI conforte l'hypothèse selon laquelle l'AHAI représente avant tout une complication de la maladie, et non des traitements. Il est néanmoins possible que dans certains cas, l'immunodépression induite par la chimiothérapie puisse favoriser l'échappement de la tolérance au soi.

Chez les patients atteints de LLC, le diagnostic d'AHAI peut être difficile. Dans notre cohorte, les signes biologiques d'hémolyse étaient le plus souvent francs, avec des LDH élevées et un taux d'haptoglobine effondré dans plus de 95% des cas. L'augmentation de la bilirubine était moins constante, puisque retrouvée dans seulement 71% des cas. L'hyper-réticulocytose (taux de réticulocytes $> 150.10^9/L$), qui représente un argument majeur dans le diagnostic d'AHAI idiopathique, n'était présente que chez 55% de nos patients. Cette absence de régénération médullaire peut s'expliquer par l'infiltration tumorale de la moelle osseuse ou par la toxicité des traitements antérieurs. Chez certains patients évolutifs, qui ont été exclus de cette étude, il peut être difficile de différencier une érythroblastopénie d'une AHAI. Un test de Coombs direct positif ne suffit pas à affirmer l'hémolyse, les LDH ne sont pas spécifiques et la mise en évidence de précurseurs érythroïdes peut être délicate dans une moelle massivement envahie. Le dosage de l'haptoglobine, qui n'entre pas dans les critères diagnostiques habituellement proposés, pourrait permettre d'orienter le diagnostic.

Le traitement de l'anémie hémolytique immunologique n'est pas consensuel. Les recommandations thérapeutiques émanent d'avis d'experts et aucun essai thérapeutique prospectif n'a été conduit à ce jour. Les différentes options thérapeutiques n'ont même jamais été comparées de façon rétrospective. Les études de cohortes issues des registres ont surtout eu pour objectif d'évaluer la prévalence, les facteurs associés et le pronostic de l'AHAI associée à la LLC, et n'ont décrit que succinctement les traitements mis en œuvre.

Cette étude avait pour objectif de colliger les traitements proposés dans 4 centres français de référence sur la LLC. Elle a déjà permis de constater une grande variabilité des pratiques entre les centres et même au sein du même centre, avec néanmoins une tendance générale à l'introduction plus précoce d'une chimiothérapie et/ou du rituximab depuis quelques années. La prescription de corticothérapie en première ligne ainsi que la nécessité d'associer un traitement actif sur la LLC en cas de poussée évolutive concomitante de la maladie caractérisent la démarche thérapeutique globale. Les modalités d'utilisation des corticoïdes (dose d'attaque, durée du traitement) ont été très variables d'un patient à l'autre, y compris lorsque ceux-ci étaient associés à la chimiothérapie. Les chimiothérapies habituellement proposées en cas d'AHAI « complexe » ont été le ChOP LLC associé ou non au rituximab ou le RCD. Lorsqu'il n'était pas couplé à de la chimiothérapie, le rituximab a été introduit plus souvent en cas de réponse insuffisante à la corticothérapie ou dans le but d'en diminuer la

durée et la toxicité chez les sujets fragiles (épargne cortisonique). L'utilisation de l'alemtuzumab est restée plus anecdotique et cet anticorps a principalement été utilisé en cas d'échec des traitements précédents (LLC réfractaire). Le choix du traitement de l'AHAI a été également conditionné par les traitements précédemment reçus, soit pour un épisode antérieur d'AHAI, soit pour une poussée de l'hémopathie lymphoïde.

Si pour la leucémie lymphoïde chronique par elle-même, l'évaluation de la réponse a fait l'objet de recommandations consensuelles, il est loin d'en être de même pour l'anémie hémolytique associée à la LLC.

Aucun critère de réponse n'est proposé pour l'anémie hémolytique auto-immune dans le protocole national de diagnostic et de soins sur l'anémie hémolytique auto-immune émis récemment par la Haute Autorité de Santé (HAS).

Dans le contexte de LLC, les différents auteurs ont proposé leurs propres critères et il nous est apparu intéressant de les comparer à partir de notre série. En dépit de certaines données manquantes telles le taux de LDH ou le test de Coombs direct en fin de traitement, cette comparaison a pu être réalisée sur 70 épisodes d'AHAI. Le taux de réponse globale est similaire quels que soient les critères utilisés, mais les taux de réponse complète sont significativement différents. Il serait souhaitable d'harmoniser les critères de réponse pour les AHAIs associées à la LLC. Dans l'étude de Rossignol *et al.*, l'obtention d'une réponse complète requiert une réticulocytose normale (dont la valeur n'est pas précisée) et un taux de LDH normal (dont l'élévation persistante peut aussi refléter l'activité de la LLC) [153]. Selon Mauro *et al.*, une réponse complète nécessite la normalisation du taux d'hémoglobine et la disparition des anticorps anti-érythrocyte (test de Coombs direct négatif, absence d'agglutinines froides) [123]. Dans ces conditions, le délai d'évaluation (réalisé moins de trois mois après la fin du traitement dans notre étude) peut influencer sur la qualification de la réponse, puisque la négativation du test de Coombs direct est parfois très retardée. Par ailleurs, dans un certain nombre de cas, le test de Coombs demeure positif alors que l'hémolyse est contrôlée de façon durable. Utilisés dans un but de simplification dans notre étude, les critères de Zent *et al.*, fondés uniquement sur le taux d'hémoglobine [184], mériteraient d'être affinés en y adjoignant sur le taux d'hémoglobine, la réticulocytose et l'haptoglobine.

Pour évaluer l'efficacité des différentes stratégies utilisées pour le traitement de l'anémie hémolytique auto-immune, nous avons analysé séparément la réponse de l'AHAI et la réponse de la LLC. Compte tenu de l'importante hétérogénéité des traitements, nous avons pris le parti de les regrouper en 7 catégories, dont les compositions peuvent être discutables. Par exemple, le groupe ChOP LLC comprend les chimiothérapies de type ChOP et ChOP + rituximab. Etant donné l'intérêt du rituximab dans le traitement de l'AHAI, ces deux traitements ne sont probablement pas équivalents.

Malgré ces limites, nous avons pu constater des taux de réponse significativement différents entre les groupes en les comparant de façon globale. Du fait du faible effectif dans la majorité des groupes, il n'a pas été possible de faire des comparaisons deux à deux et de déterminer le schéma thérapeutique offrant le meilleur taux de réponse. Globalement, la durée médiane de réponse de l'AHAI est courte, inférieure à un an. Bien que les différences soient non significatives, la réponse est plus prolongée dans le groupe ChOP que dans le groupe corticoïdes (médiane de 40 mois contre 11 mois). L'association RCD a été utilisée à 18 reprises dans notre série. Les résultats encourageants récemment rapportés ne peuvent être confirmés ou infirmés pour le moment en raison d'un recul très insuffisant.

A ce jour, il n'est plus certain que la corticothérapie seule demeure la meilleure option thérapeutique dans les AHAIs dites « simples », sans évolutivité associée de la LLC. Les rechutes pendant ou après le traitement sont fréquentes et la corticothérapie ne peut souvent pas être arrêtée (cortico-dépendance). Un traitement qui soit actif à la fois sur l'AHAI et la LLC sous-jacente pourrait permettre d'améliorer le taux et la durée de la première réponse. En l'absence d'évolutivité de la LLC, le schéma proposé ne doit pas être toxique et exposer les malades à des complications infectieuses majeures. L'association du rituximab à la corticothérapie pourrait être envisagée, bien que probablement non optimale sur la LLC. Le schéma RCD proposé récemment en cas d'AHAI « simple » réfractaire aux corticoïdes ou d'AHAI « complexe » représente possiblement un bon compromis. Son activité tant sur le plan de l'AHAI que de la LLC a été rapportée à plusieurs reprises, et il s'agit d'un traitement bien toléré [77, 101, 153]. L'élaboration d'un essai thérapeutique multicentrique prospectif comparant la corticothérapie continue à une chimiothérapie de type RCD dans le traitement de première intention des AHAIs « simples » semble donc justifiée.

Le choix du traitement lorsque l'AHAI est associée à une poussée évolutive de la LLC est encore plus délicat. En l'absence d'inactivation de la voie p53, la chimiothérapie de type FCR représente le traitement de référence de la LLC chez les sujets sans comorbidités. En dépit des controverses autour de la fludarabine, certaines équipes notamment britanniques ont proposé l'utilisation de l'association FCR comme traitement de première intention des AHAIs « complexes ». Cette attitude n'est pour le moment pas partagée par la majorité des équipes françaises. La fludarabine seule ou en association a longtemps été contre-indiquée en cas de test de Coombs direct positif, même en l'absence d'hémolyse. Si le FCR est maintenant utilisé en cas d'auto-immunisation anti-érythrocytaire sans hémolyse, son utilisation en cas d'hémolyse active doit être extrêmement prudente compte tenu du peu de données disponibles dans cette indication spécifique.

D'autres schémas associant immunothérapie et chimiothérapie sont préférentiellement utilisés dans les AHAIs « complexes ». L'association R-ChOP LLC, qui n'a plus d'autre indication réelle peut s'avérer intéressante, comme le suggère notre étude. L'utilisation d'anthracyclines est discutable en raison de leur toxicité médullaire et de leur effet modeste sur les cellules de tumorales de LLC. Ceci peut renforcer l'attrait pour l'association RCD dont les résultats ont déjà été commentés.

D'autres molécules récemment disponibles et actives dans la LLC, tels la bendamustine ou l'ofatumumab mériteraient d'être évaluées dans cette indication.

.

CONCLUSION

L'anémie hémolytique auto-immune est une complication non rare de la leucémie lymphoïde chronique. Sa physiopathologie ainsi que les facteurs responsables de sa survenue ne sont qu'imparfaitement appréhendés. Il n'existe aucun consensus sur son traitement et les pratiques actuelles sont très hétérogènes.

Au cours de ce travail, nous avons repris les observations de 48 patients atteints de LLC compliquée d'anémie hémolytique auto-immune. La majorité des patients dans cette cohorte présente des facteurs pronostiques défavorables : expression du CD38 et de Zap-70, statut « non muté » du gène des IgVH. L'étude cytogénétique par FISH retrouve une délétion 11q chez 33% des patients, ce qui est beaucoup plus élevé que la fréquence habituellement décrite dans les séries de patients atteints de LLC.

Dans notre cohorte, la prise en charge des patients est hétérogène. La corticothérapie est le traitement le plus prescrit, mais la durée de réponse est habituellement brève. Les associations chimiothérapie et rituximab telles le RCD ou le R-ChOP LLC doivent être privilégiées dans les AHAI « complexes » et pourraient être introduites dès la première ligne de traitement dans les AHAI « simples ».

La création d'un observatoire national collectant prospectivement les données des patients atteints d'AHAI associée à la LLC ainsi que la mise en place d'un essai clinique comparant la corticothérapie au schéma RCD chez les patients présentant une AHAI « simple » pourraient permettre de répondre à ces questions.

BIBLIOGRAPHIE

1. AKPEK G, MCANENY D, WEINTRAUB L.
Comparative response to splenectomy in Coombs-positive autoimmune hemolytic anemia with or without associated disease.
Am J Hematol 1999 ; 61 (2) : 98-102.

2. ANHALT GJ, KIM SC, STANLEY JR, KORMAN NJ, JABS DA, KORY M, *et al.*
Paraneoplastic pemphigus. An autoimmune mucocutaneous disease associated with neoplasia.
N Engl J Med 1990 ; 323 (25) : 1729-35.

3. ARAMPATZIS S, GIANNAKOULAS N, LIAKOPOULOS V, ELEFThERIADIS T, KOURTI P, KARASAVVIDOU F, *et al.*
Simultaneous clinical resolution of focal segmental glomerulosclerosis associated with chronic lymphocytic leukaemia treated with fludarabine, cyclophosphamide and rituximab.
BMC Nephrol 2011 ; 12 (1) : 33.

4. ATHANASIADOU A, STAMATOPOULOS K, TSOMPANAKOU A, GAITATZI M, KALOGIANNIDIS P, ANAGNOSTOPOULOS A, *et al.*
Clinical, immunophenotypic, and molecular profiling of trisomy 12 in chronic lymphocytic leukemia and comparison with other karyotypic subgroups defined by cytogenetic analysis.
Cancer Genet Cytogenet 2006 ; 168 (2) : 109-19.

5. BARBOUR SJ, BEAULIEU MC, ZALUNARDO NY, MAGIL AB.
Proliferative glomerulonephritis with monoclonal IgG deposits secondary to chronic lymphocytic leukemia. Report of two cases.
Nephrol Dial Transplant 2011 ; 26 (8) : 2712-4.

6. BARCELLINI W, CAPALBO S, AGOSTINELLI RM, MAURO FR, AMBROSETTI A, CALORI R, *et al.*
Relationship between autoimmune phenomena and disease stage and therapy in B-cell chronic lymphocytic leukemia.
Haematologica 2006 ; 91 (12) : 1689-92.

7. BAZARBACHI A, BACHELEZ H, DEHEN L, DELMER A, ZITTOUN R, DUBERTRET L.
Lethal paraneoplastic pemphigus following treatment of chronic lymphocytic leukaemia with fludarabine.
Ann Oncol 1995 ; 6 (7) : 730-1.

8. BERTILACCIO MT, SCIELZO C, MUZIO M, CALIGARIS-CAPPIO F.
An overview of chronic lymphocytic leukaemia biology.
Best Pract Res Clin Haematol 2010 ; 23 (1) : 21-32.

9. BEYER M, KOCHANKE M, DARABI K, POPOV A, JENSEN M, ENDL E, *et al.*
Reduced frequencies and suppressive function of CD4+CD25hi regulatory T cells in patients with chronic lymphocytic leukemia after therapy with fludarabine.
Blood 2005 ; 106 (6) : 2018-25.

10. BIBI-TRIKI T, ECLACHE V, FRILAY Y, STIRNEMANN J, FREMEAUX-BACCHI V, FAIN O.
Acquired C1 inhibitor deficiency associated with lymphoproliferative disorders : four cases.
Rev Med Interne 2004 ; 25 (9) : 667-72.

11. BINET JL, AUQUIER A, DIGHIERO G, CHASTANG C, PIGUET H, GOASGUEN J, *et al.*
A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis.
Cancer 1981 ; 48 (1) : 198-206.

12. BOONSTRA JG, VAN LOM K, LANGERAK AW, GRAVELAND WJ, VALK PJ, KRAAN J, *et al.*
CD38 as a prognostic factor in B cell chronic lymphocytic leukaemia (B-CLL) : comparison of three approaches to analyze its expression.
Cytometry B Clin Cytom 2006 ; 70 (3) : 136-41.

13. BORTHAKUR G, O'BRIEN S, WIERDA WG, THOMAS DA, CORTES JE, GILES FJ, *et al.*
Immune anaemias in patients with chronic lymphocytic leukaemia treated with fludarabine, cyclophosphamide and rituximab--incidence and predictors.
Br J Haematol 2007 ; 136 (6) : 800-5.

14. BOWEN DA, CALL TG, SHANAFELT TD, KAY NE, SCHWAGER SM, REINALDA MS, *et al.*
Treatment of autoimmune cytopenia complicating progressive chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma with rituximab, cyclophosphamide, vincristine, and prednisone.
Leuk Lymphoma 2010 ; 51 (4) : 620-7.

15. BRAESS J, REICH K, WILLERT S, STRUTZ F, NEUMANN C, HIDDEMANN W, *et al.*
Mucocutaneous autoimmune syndrome following fludarabine therapy for low-grade non-Hodgkin's lymphoma of B-cell type (B-NHL).
Ann Hematol 1997 ; 75 (5-6) : 227-30.

16. BROKER BM, KLAJMAN A, YOUINOU P, JOUQUAN J, WORMAN CP, MURPHY J, *et al.*
Chronic lymphocytic leukemic (CLL) cells secrete multispecific autoantibodies.
J Autoimmun 1988 ; 1 (5) : 469-81.

17. BYRD JC, HERTLER AA, WEISS RB, FREIMAN J, KWEDER SL, DIEHL LF.
Fatal recurrence of autoimmune hemolytic anemia following pentostatin therapy in a patient with a history of fludarabine-associated hemolytic anemia.
Ann Oncol 1995 ; 6 (3) : 300-1.

18. CALIGARIS-CAPPIO F.
B-chronic lymphocytic leukemia : a malignancy of anti-self B cells.
Blood 1996 ; 87 (7) : 2615-20.

19. CALIGARIS-CAPPIO F.
Role of the microenvironment in chronic lymphocytic leukaemia.
Br J Haematol 2003 ; 123 (3) : 380-8.

20. CALIGARIS-CAPPIO F, GHIA P.
The normal counterpart to the chronic lymphocytic leukemia B cell.
Best Pract Res Clin Haematol 2007 ; 20 (3) : 385-97.

21. CALIN GA, PEKARSKY Y, CROCE CM.
The role of microRNA and other non-coding RNA in the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia.
Best Pract Res Clin Haematol 2007 ; 20 (3) : 425-37.

22. CATOVSKY D, RICHARDS S, MATUTES E, OSCIER D, DYER MJ, BEZARES RF, *et al.*
Assessment of fludarabine plus cyclophosphamide for patients with chronic lymphocytic leukaemia (the LRF CLL4 Trial) : a randomised controlled trial.
Lancet 2007 ; 370 (9583) : 230-9.

23. CAVAZZINI F, HERNANDEZ JA, GOZZETTI A, RUSSO ROSSI A, DE ANGELI C, TISEO R, *et al.*
Chromosome 14q32 translocations involving the immunoglobulin heavy chain locus in chronic lymphocytic leukaemia identify a disease subset with poor prognosis.
Br J Haematol 2008 ; 142 (4) : 529-37.

24. CENTOLA M, LIN K, SUTTON C, BERENSON JR, KUNKEL LA, ROSEN L, *et al.*
Production of anti-erythrocyte antibodies by leukemic and nonleukemic B cells in chronic lymphocytic leukemia patients.
Leuk Lymphoma 1996 ; 20 (5-6) : 465-69.

25. CESANA C, CARLO-STELLA C, MANGONI L, ALMICI C, GIACHETTI R, ZAPPA M, *et al.*
Response to cyclosporin A and recombinant human erythropoietin in a case of B cell chronic lymphocytic leukemia and pure red cell aplasia.
Leukemia 1996 ; 10 (8) : 1400-1.

26. CHEMNITZ J, DRAUBE A, DIEHL V, WOLF J.
Successful treatment of steroid and cyclophosphamide-resistant hemolysis in chronic lymphocytic leukemia with rituximab.
Am J Hematol 2002 ; 69 (3) : 232-3.

27. CHIKKAPPA G, PASQUALE D, ZARRABI MH, WEILER RJ, DIVAKARA M, TSAN MF.

Cyclosporine and prednisone therapy for pure red cell aplasia in patients with chronic lymphocytic leukemia.

Am J Hematol 1992 ; 41 (1) : 5-12.

28. CHIKKAPPA G, ZARRABI MH, TSAN MF.

Pure red-cell aplasia in patients with chronic lymphocytic leukemia.

Medicine 1986 ; 65 (5) : 339-51.

29. CHIORAZZI N, FERRARINI M.

B cell chronic lymphocytic leukemia : lessons learned from studies of the B cell antigen receptor.

Annu Rev Immunol 2003 ; 21 : 841-94.

30. CHIORAZZI N, FERRARINI M.

Cellular origin(s) of chronic lymphocytic leukemia : cautionary notes and additional considerations and possibilities.

Blood 2011 ; 117 (6) : 1781-91.

31. CICARDI M, ZINGALE LC, PAPPALARDO E, FOLCIONI A, AGOSTONI A.

Autoantibodies and lymphoproliferative diseases in acquired C1-inhibitor deficiencies.

Medicine 2003 ; 82 (4) : 274-81.

32. CIMMINO A, CALIN GA, FABBRI M, IORIO MV, FERRACIN M, SHIMIZU M, *et al.*
miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2.

Proc Natl Acad Sci U S A 2005 ; 102 (39) : 13944-9.

33. CITORES MJ, CASTEJON R, VILLARREAL M, ROSADO S, GARCIA-MARCO JA, VARGAS JA.

CD154 expression triggered by purine analogues in vitro : Correlation with treatment response and autoimmune events in chronic lymphocytic leukemia.

Exp Hematol 2010 ; 38 (3) : 165-73.

34. CORTES J, O'BRIEN S, LOSCERTALES J, KANTARJIAN H, GILES F, THOMAS D, *et al.*

Cyclosporin A for the treatment of cytopenia associated with chronic lymphocytic leukemia.

Cancer 2001 ; 92 (8) : 2016-22.

35. CRESPO M, BOSCH F, VILLAMOR N, BELLOSILLO B, COLOMER D, ROZMAN M, *et al.*

ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia.

N Engl J Med 2003 ; 348 (18) : 1764-75.

36. CRIEL A, VERHOEF G, VLIETINCK R, MECUCCI C, BILLIET J, MICHAUX L, *et al.*

Further characterization of morphologically defined typical and atypical CLL : a clinical, immunophenotypic, cytogenetic and prognostic study on 390 cases.

Br J Haematol 1997 ; 97 (2) : 383-91.

37. CUNEO A, RIGOLIN GM, BIGONI R, DE ANGELI C, VERONESE A, CAVAZZINI F, *et al.*

Chronic lymphocytic leukemia with 6q- shows distinct hematological features and intermediate prognosis.

Leukemia 2004 ; 18 (3) : 476-83.

38. CUNI LJ, GRUNWALD H, ROSNER F.

Bullous pemphigoid in chronic lymphocytic leukemia with the demonstration of antibasement membrane antibodies.

Am J Med 1974 ; 57 (6) : 987-92.

39. D'ARENA G, LAURENTI L, CAPALBO S, D'ARCO AM, DE FILIPPI R, MARCACCI G, *et al.*

Rituximab therapy for chronic lymphocytic leukemia-associated autoimmune hemolytic anemia.

Am J Hematol 2006 ; 81 (8) : 598-602.

40. DAMESHEK W, KOMNINOS ZD.

The present status of treatment of autoimmune hemolytic anemia with ACTH and cortisone.

Blood 1956 ; 11 (7) : 648-64.

41. DAMLE RN, CALISSANO C, CHIORAZZI N.

Chronic lymphocytic leukaemia : a disease of activated monoclonal B cells.

Best Pract Res Clin Haematol 2010 ; 23 (1) : 33-45.

42. DAMLE RN, GHIOTTO F, VALETTO A, ALBESIANO E, FAIS F, YAN XJ, *et al.*

B-cell chronic lymphocytic leukemia cells express a surface membrane phenotype of activated, antigen-experienced B lymphocytes.

Blood 2002 ; 99 (11) : 4087-93.

43. DAMLE RN, WASIL T, FAIS F, GHIOTTO F, VALETTO A, ALLEN SL, *et al.*

Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia.

Blood 1999 ; 94 (6) : 1840-7.

44. DAZZI F, D'ANDREA E, BIASI G, DE SILVESTRO G, GAIDANO G, SCHENA M, *et al.*

Failure of B cells of chronic lymphocytic leukemia in presenting soluble and alloantigens.

Clin Immunol Immunopathol 1995 ; 75 (1) : 26-32.

45. DEARDEN C.

Disease-specific complications of chronic lymphocytic leukemia.

Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2008 : 450-6.

46. DEARDEN C.

Stage C or not stage C...?

Blood 2010 ; 116 (23) : 4735-6.

47. DEARDEN C, WADE R, ELSE M, RICHARDS S, MILLIGAN D, HAMBLIN T, *et al.*
The prognostic significance of a positive direct antiglobulin test in chronic lymphocytic leukemia : a beneficial effect of the combination of fludarabine and cyclophosphamide on the incidence of hemolytic anemia.
Blood 2008 ; 111 (4) : 1820-6.

48. DEL GIUDICE I, MORILLA A, OSUJI N, MATUTES E, MORILLA R, BURFORD A, *et al.*
Zeta-chain associated protein 70 and CD38 combined predict the time to first treatment in patients with chronic lymphocytic leukemia.
Cancer 2005 ; 104 (10) : 2124-32.

49. DIEHL LF, KARNELL LH, MENCK HR.
The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. The National Cancer Data Base report on age, gender, treatment, and outcomes of patients with chronic lymphocytic leukemia.
Cancer 1999 ; 86 (12) : 2684-92.

50. DING W, ZENT CS.
Diagnosis and management of autoimmune complications of chronic lymphocytic leukemia/ small lymphocytic lymphoma.
Clin Adv Hematol Oncol 2007 ; 5 (4) : 257-61.

51. DOHNER H, FISCHER K, BENTZ M, HANSEN K, BENNER A, CABOT G, *et al.*
p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias.
Blood 1995 ; 85 (6) : 1580-9.

52. DOHNER H, STILGENBAUER S, BENNER A, LEUPOLT E, KROBER A, BULLINGER L, *et al.*
Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia.
N Engl J Med 2000 ; 343 (26) : 1910-6.

53. DOHNER H, STILGENBAUER S, JAMES MR, BENNER A, WEILGUNI T, BENTZ M, *et al.*
11q deletions identify a new subset of B-cell chronic lymphocytic leukemia characterized by extensive nodal involvement and inferior prognosis.
Blood 1997 ; 89 (7) : 2516-22.

54. DORES GM, ANDERSON WF, CURTIS RE, LANDGREN O, OSTROUMOVA E, BLUHM EC, *et al.*
Chronic lymphocytic leukaemia and small lymphocytic lymphoma : overview of the descriptive epidemiology.
Br J Haematol 2007 ; 139 (5) : 809-19.

55. DRAKE WM, MONSON JP, TRAINER PJ, SHARIEF M, DICK JP, KELSEY SM.
Acute polyneuropathy with chronic lymphocytic leukaemia and paraproteinaemia : response to chlorambucil and prednisolone.
J Neurol Neurosurg Psychiatry 1998 ; 64 (4) : 564.

56. DREGER P, CORRADINI P, KIMBY E, MICHALLET M, MILLIGAN D, SCHETELIG J, *et al.*

Indications for allogeneic stem cell transplantation in chronic lymphocytic leukemia : the EBMT transplant consensus.

Leukemia 2007 ; 21 (1) : 12-7.

57. DUEK A, SHVIDEL L, BRAESTER A, BERREBI A.

Clinical and immunologic aspects of B chronic lymphocytic leukemia associated with autoimmune disorders.

Isr Med Assoc J 2006 ; 8 (12) : 828-31.

58. DURIG J, NASCHAR M, SCHMUCKER U, RENZING-KOHLER K, HOLTER T, HUTTMANN A, *et al.*

CD38 expression is an important prognostic marker in chronic lymphocytic leukaemia.

Leukemia 2002 ; 16 (1) : 30-5.

59. DURIG J, NUCKEL H, CREMER M, FUHRER A, HALFMEYER K, FANDREY J, *et al.*

ZAP-70 expression is a prognostic factor in chronic lymphocytic leukemia.

Leukemia 2003 ; 17 (12) : 2426-34.

60. EFREMOV DG, IVANOVSKI M, SILJANOVSKI N, POZZATO G, CEVRESKA L, FAIS F, *et al.*

Restricted immunoglobulin VH region repertoire in chronic lymphocytic leukemia patients with autoimmune hemolytic anemia.

Blood 1996 ; 87 (9) : 3869-76.

61. EICHHORST BF, BUSCH R, HOPFINGER G, PASOLD R, HENSEL M, STEINBRECHER C, *et al.*

Fludarabine plus cyclophosphamide versus fludarabine alone in first-line therapy of younger patients with chronic lymphocytic leukemia.

Blood 2006 ; 107 (3) : 885-91.

62. ENGELFRIET CP, OVERBEEKE MA, VON DEM BORNE AE.

Autoimmune hemolytic anemia.

Semin Hematol 1992 ; 29 (1) : 3-12.

63. FAIS F, GHIOTTO F, HASHIMOTO S, SELLARS B, VALETTO A, ALLEN SL, *et al.*

Chronic lymphocytic leukemia B cells express restricted sets of mutated and unmutated antigen receptors.

J Clin Invest 1998 ; 102 (8) : 1515-25.

64. FAVRE G, COURTELLEMONT C, CALLARD P, COLOMBAT M, CABANE J, BOFFA JJ, *et al.*

Membranoproliferative glomerulonephritis, chronic lymphocytic leukemia, and cryoglobulinemia.

Am J Kidney Dis 2010 ; 55 (2) : 391-4.

65. FLEMING AF.

The epidemiology of lymphomas and leukaemias in Africa--an overview.
Leuk Res 1985 ; 9 (6) : 735-40.

66. FLINN IW, NEUBERG DS, GREVER MR, DEWALD GW, BENNETT JM, PAIETTA EM, *et al.*

Phase III trial of fludarabine plus cyclophosphamide compared with fludarabine for patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia : US Intergroup Trial E2997.
J Clin Oncol 2007 ; 25 (7) : 793-8.

67. GALLETTI J, CANONES C, MORANDE P, BERGE M, OPPEZZO P, GEFFNER J, *et al.*

Chronic lymphocytic leukemia cells bind and present the erythrocyte protein band 3 : possible role as initiators of autoimmune hemolytic anemia.
J Immunol 2008 ; 181 (5) : 3674-83.

68. GHAZAL H.

Successful treatment of pure red cell aplasia with rituximab in patients with chronic lymphocytic leukemia.
Blood 2002 ; 99 (3) : 1092-4.

69. GHIA P, GUIDA G, STELLA S, GOTTARDI D, GEUNA M, STROLA G, *et al.*

The pattern of CD38 expression defines a distinct subset of chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients at risk of disease progression.
Blood 2003 ; 101 (4) : 1262-9.

70. GHIA P, SCIELZO C, FRENQUELLI M, MUZIO M, CALIGARIS-CAPPIO F.

From normal to clonal B cells : Chronic lymphocytic leukemia (CLL) at the crossroad between neoplasia and autoimmunity.
Autoimmun Rev 2007 ; 7 (2) : 127-31.

71. GIANNOPOULOS K, SCHMITT M, KOWAL M, WLASIUK P, BOJARSKA-JUNAK A, CHEN J, *et al.*

Characterization of regulatory T cells in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia.
Oncol Rep 2008 ; 20 (3) : 677-82.

72. GOLDIN LR, CAPORASO NE.

Family studies in chronic lymphocytic leukaemia and other lymphoproliferative tumours.
Br J Haematol 2007 ; 139 (5) : 774-9.

73. GOOPTU C, LITTLEWOOD TJ, FRITH P, LYON CC, CARMICHAEL AJ, OLIWIECKI S, *et al.*

Paraneoplastic pemphigus : an association with fludarabine?
Br J Dermatol 2001 ; 144 (6) : 1255-61.

74. GOTIC M, BASARA N, ROLOVIC Z, BOSKOVIC D, ANTUNOVIC P, MARISAVLJEVIC D, *et al.*

Successful treatment of refractory pure red cell aplasia secondary to chronic lymphocytic leukaemia with cyclosporine A : correlation between clinical and in vitro effects.
Nouv Rev Fr Hematol 1994 ; 36 (4) : 307-9.

75. GRIBBEN JG.
How I treat CLL up front.
Blood 2010 ; 115 (2) : 187-97.
76. GRIBBEN JG, O'BRIEN S.
Update on therapy of chronic lymphocytic leukemia.
J Clin Oncol 2011 ; 29 (5) : 544-50.
77. GUPTA N, KAVURU S, PATEL D, JANSON D, DRISCOLL N, AHMED S, *et al.*
Rituximab-based chemotherapy for steroid-refractory autoimmune hemolytic anemia of chronic lymphocytic leukemia.
Leukemia 2002 ; 16 (10) : 2092-5.
78. HAFERLACH C, DICKER F, SCHNITTGER S, KERN W, HAFERLACH T.
Comprehensive genetic characterization of CLL : a study on 506 cases analysed with chromosome banding analysis, interphase FISH, IgV(H) status and immunophenotyping.
Leukemia 2007 ; 21 (12) : 2442-51.
79. HALL AM, VICKERS MA, MCLEOD E, BARKER RN.
Rh autoantigen presentation to helper T cells in chronic lymphocytic leukemia by malignant B cells.
Blood 2005 ; 105 (5) : 2007-15.
80. HALLEK M.
Therapy of chronic lymphocytic leukaemia.
Best Pract Res Clin Haematol 2010 ; 23 (1) : 85-96.
81. HALLEK M, CHESON BD, CATOVSKY D, CALIGARIS-CAPPIO F, DIGHIERO G, DOHNER H, *et al.*
Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia : a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines.
Blood 2008 ; 111 (12) : 5446-56.
82. HALLEK M, FISCHER K, FINGERLE-ROWSON G, FINK AM, BUSCH R, MAYER J, *et al.*
Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia : a randomised, open-label, phase 3 trial.
Lancet 2010 ; 376 (9747) : 1164-74.
83. HALLEK M, LANGENMAYER I, NERL C, KNAUF W, DIETZFELBINGER H, ADORF D, *et al.*
Elevated serum thymidine kinase levels identify a subgroup at high risk of disease progression in early, nonsmoldering chronic lymphocytic leukemia.
Blood 1999 ; 93 (5) : 1732-7.

84. HALLEK M, WANDERS L, OSTWALD M, BUSCH R, SENEKOWITSCH R, STERN S, *et al.*
Serum beta(2)-microglobulin and serum thymidine kinase are independent predictors of progression-free survival in chronic lymphocytic leukemia and immunocytoma.
Leuk Lymphoma 1996 ; 22 (5-6) : 439-47.
85. HAMBLIN TJ.
Autoimmune complications of chronic lymphocytic leukemia.
Semin Oncol 2006 ; 33 (2) : 230-9.
86. HAMBLIN TJ.
Just exactly how common is CLL?
Leuk Res 2009 ; 33 (11) : 1452-3.
87. HAMBLIN TJ, DAVIS Z, GARDINER A, OSCIER DG, STEVENSON FK.
Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia.
Blood 1999 ; 94 (6) : 1848-54.
88. HAMBLIN TJ, ORCHARD JA, IBBOTSON RE, DAVIS Z, THOMAS PW, STEVENSON FK, *et al.*
CD38 expression and immunoglobulin variable region mutations are independent prognostic variables in chronic lymphocytic leukemia, but CD38 expression may vary during the course of the disease.
Blood 2002 ; 99 (3) : 1023-9.
89. HAMBLIN TJ, OSCIER DG, YOUNG BJ.
Autoimmunity in chronic lymphocytic leukaemia.
J Clin Pathol 1986 ; 39 (7) : 713-6.
90. HENRIKSEN KJ, HONG RB, SOBRERO MI, CHANG A.
Rare association of chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma, ANCA, and pauci-immune crescentic glomerulonephritis.
Am J Kidney Dis 2011 ; 57 (1) : 170-4.
91. HERNANDEZ JA, LAND KJ, MCKENNA RW.
Leukemias, myeloma, and other lymphoreticular neoplasms.
Cancer 1995 ; 75 (1 Suppl) : 381-94.
92. HILL J, WALSH RM, MCHAM S, BRODY F, KALAYCIO M.
Laparoscopic splenectomy for autoimmune hemolytic anemia in patients with chronic lymphocytic leukemia : a case series and review of the literature.
Am J Hematol 2004 ; 75 (3) : 134-8.
93. HODGSON K, FERRER G, MONTSERRAT E, MORENO C.
Chronic lymphocytic leukemia and autoimmunity : a systematic review.
Haematologica 2011 ; 96 (5) : 752-61.

94. HODGSON K, FERRER G, PEREIRA A, MORENO C, MONTSERRAT E.
Autoimmune cytopenia in chronic lymphocytic leukaemia : diagnosis and treatment.
Br J Haematol 2011 ; 154 (1) : 14-22.

95. IANNITTO E, AMMATUNA E, MARINO C, CIRRINCIONE S, GRECO G, MARIANI G.
Sustained response of refractory chronic lymphocytic leukemia in progression complicated by acute hemolytic anemia to anti-CD20 monoclonal antibody.
Blood 2002 ; 99 (3) : 1096-7.

96. JAK M, MOUS R, REMMERSWAAL EB, SPIJKER R, JASPERS A, YAGUE A, *et al.*
Enhanced formation and survival of CD4+ CD25hi Foxp3+ T-cells in chronic lymphocytic leukemia.
Leuk Lymphoma 2009 ; 50 (5) : 788-801.

97. JELINEK DF, TSCHUMPER RC, GEYER SM, BONE ND, DEWALD GW, HANSON CA, *et al.*
Analysis of clonal B-cell CD38 and immunoglobulin variable region sequence status in relation to clinical outcome for B-chronic lymphocytic leukaemia.
Br J Haematol 2001 ; 115 (4) : 854-61.

98. JULIUSSON G, OSCIER DG, FITCHETT M, ROSS FM, STOCKDILL G, MACKIE MJ, *et al.*
Prognostic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalities.
N Engl J Med 1990 ; 323 (11) : 720-4.

99. KALLANDER CF, SIMONSSON B, HAGBERG H, GRONOWITZ JS.
Serum deoxythymidine kinase gives prognostic information in chronic lymphocytic leukemia.
Cancer 1984 ; 54 (11) : 2450-5.

100. KARLSSON C, HANSSON L, CELSING F, LUNDIN J.
Treatment of severe refractory autoimmune hemolytic anemia in B-cell chronic lymphocytic leukemia with alemtuzumab (humanized CD52 monoclonal antibody).
Leukemia 2007 ; 21 (3) : 511-4.

101. KAUFMAN M, LIMAYE SA, DRISCOLL N, JOHNSON C, CARAMANICA A, LEBOWICZ Y, *et al.*
A combination of rituximab, cyclophosphamide and dexamethasone effectively treats immune cytopenias of chronic lymphocytic leukemia.
Leuk Lymphoma 2009 ; 50 (6) : 892-9.

102. KIEWE P, TEPEL M, LODDENKEMPER C, GRUNBAUM M, GRABOWSKI P, KORFEL A, *et al.*
Extensive leukemic kidney infiltration with membranoproliferative glomerulonephritis in a patient with B-cell chronic lymphocytic leukemia.
Ann Hematol 2007 ; 86 (9) : 691-2.

103. KIPPS TJ, CARSON DA.

Autoantibodies in chronic lymphocytic leukemia and related systemic autoimmune diseases.
Blood 1993 ; 81 (10) : 2475-87.

104. KLEIN U, TU Y, STOLOVITZKY GA, MATTIOLI M, CATTORETTI G, HUSSON H, *et al.*

Gene expression profiling of B cell chronic lymphocytic leukemia reveals a homogeneous phenotype related to memory B cells.
J Exp Med 2001 ; 194 (11) : 1625-38.

105. KROBER A, SEILER T, BENNER A, BULLINGER L, BRUCKLE E, LICHTER P, *et al.*

V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia.
Blood 2002 ; 100 (4) : 1410-6.

106. KYASA MJ, PARRISH RS, SCHICHMAN SA, ZENT CS.

Autoimmune cytopenia does not predict poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma.
Am J Hematol 2003 ; 74 (1) : 1-8.

107. LAURENTI L, TARNANI M, EFREMOV DG, CHIUSOLO P, DE PADUA L, SICA S, *et al.*

Efficacy and safety of low-dose alemtuzumab as treatment of autoimmune hemolytic anemia in pretreated B-cell chronic lymphocytic leukemia.
Leukemia 2007 ; 21 (8) : 1819-21 ; author reply 21.

108. LEPORRIER M, CHEVRET S, CAZIN B, BOUDJERRA N, FEUGIER P, DESABLENS B, *et al.*

Randomized comparison of fludarabine, CAP, and ChOP in 938 previously untreated stage B and C chronic lymphocytic leukemia patients.
Blood 2001 ; 98 (8) : 2319-25.

109. LEPORRIER M, REMAN O, TROUSSARD X.

Pure red-cell aplasia with fludarabine for chronic lymphocytic leukaemia.
Lancet 1993 ; 342 (8870) : 555.

110. LETESTU R, LEVY V, ECLACHE V, BARAN-MARSZAK F, VAUR D, NAGUIB D, *et al.*

Prognosis of Binet stage A chronic lymphocytic leukemia patients : the strength of routine parameters.
Blood 2010 ; 116 (22) : 4588-90.

111. LETESTU R, RAWSTRON A, GHIA P, VILLAMOR N, BOECKX N, BOETTCHER S, *et al.*

Evaluation of ZAP-70 expression by flow cytometry in chronic lymphocytic leukemia : A multicentric international harmonization process.
Cytometry B Clin Cytom 2006 ; 70 (4) : 309-14.

112. LEWIS FB, SCHWARTZ RS, DAMESHEK W.
X-radiation and alkylating agents as possible "trigger" mechanisms in the autoimmune complications of malignant lymphoproliferative disease.
Clin Exp Immunol 1966 ; 1 (1) : 3-11.
113. LIEN YH, LAI LW.
Pathogenesis, diagnosis and management of paraneoplastic glomerulonephritis.
Nat Rev Nephrol 2011 ; 7 (2) : 85-95.
114. LIN K, SHERRINGTON PD, DENNIS M, MATRAI Z, CAWLEY JC, PETTITT AR.
Relationship between p53 dysfunction, CD38 expression, and IgV(H) mutation in chronic lymphocytic leukemia.
Blood 2002 ; 100 (4) : 1404-9.
115. LIPSCOMBE TK, ORTON DI, BIRD AG, WILKINSON JD.
Acquired C1-esterase inhibitor deficiency : three case reports and commentary on the syndrome.
Australas J Dermatol 1996 ; 37 (3) : 145-8.
116. LOZANSKI G, HEEREMA NA, FLINN IW, SMITH L, HARBISON J, WEBB J, *et al.*
Alemtuzumab is an effective therapy for chronic lymphocytic leukemia with p53 mutations and deletions.
Blood 2004 ; 103 (9) : 3278-81.
117. MACLEAN R, MEIKLEJOHN D, SOUTAR R.
Fludarabine-related autoimmune haemolytic anaemia in patients with chronic lymphocytic leukaemia.
Br J Haematol 1996 ; 92 (3) : 768-9.
118. MAGNAC C, PORCHER R, DAVI F, NATAF J, PAYELLE-BROGARD B, TANG RP, *et al.*
Predictive value of serum thymidine kinase level for Ig-V mutational status in B-CLL.
Leukemia 2003 ; 17 (1) : 133-7.
119. MAINOU-FOWLER T, DIGNUM HM, PROCTOR SJ, SUMMERFIELD GP.
The prognostic value of CD38 expression and its quantification in B cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL).
Leuk Lymphoma 2004 ; 45 (3) : 455-62.
120. MATEO J, MARTINO R, BORRELL M, GARI M, CASAS F, FONTCUBERTA J.
Acquired factor VIII inhibitor preceding chronic lymphocytic leukemia.
Ann Hematol 1993 ; 67 (6) : 309-11.
121. MATUTES E, OSCIER D, GARCIA-MARCO J, ELLIS J, COPPLESTONE A, GILLINGHAM R, *et al.*
Trisomy 12 defines a group of CLL with atypical morphology : correlation between cytogenetic, clinical and laboratory features in 544 patients.
Br J Haematol 1996 ; 92 (2) : 382-8.

122. MATUTES E, OWUSU-ANKOMAH K, MORILLA R, GARCIA MARCO J, HOULIHAN A, QUE TH, *et al.*

The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL.

Leukemia 1994 ; 8 (10) : 1640-5.

123. MAURO FR, FOA R, CERRETTI R, GIANNARELLI D, COLUZZI S, MANDELLI F, *et al.*

Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia : clinical, therapeutic, and prognostic features.

Blood 2000 ; 95 (9) : 2786-92.

124. MITSUI Y, KUSUNOKI S, HIRUMA S, AKAMATSU M, KIHARA M, HASHIMOTO S, *et al.*

Sensorimotor polyneuropathy associated with chronic lymphocytic leukemia, IgM antigangliosides antibody and human T-cell leukemia virus I infection.

Muscle Nerve 1999 ; 22 (10) : 1461-5.

125. MITTAL S, BLAYLOCK MG, CULLIGAN DJ, BARKER RN, VICKERS MA.

A high rate of CLL phenotype lymphocytes in autoimmune hemolytic anemia and immune thrombocytopenic purpura.

Haematologica 2008 ; 93 (1) : 151-2.

126. MOLICA S, ALBERTI A.

Prognostic value of the lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia.

Cancer 1987 ; 60 (11) : 2712-6.

127. MONTILLO M, TEDESCHI A, LEONI P.

Recurrence of autoimmune thrombocytopenia after treatment with fludarabine in a patient with chronic lymphocytic leukemia.

Leuk Lymphoma 1994 ; 15 (1-2) : 187-8.

128. MONTSERRAT E, SANCHEZ-BISONO J, VINOLAS N, ROZMAN C.

Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukaemia : analysis of its prognostic significance.

Br J Haematol 1986 ; 62 (3) : 567-75.

129. MOREAU EJ, MATUTES E, A'HERN RP, MORILLA AM, MORILLA RM, OWUSU-ANKOMAH KA, *et al.*

Improvement of the chronic lymphocytic leukemia scoring system with the monoclonal antibody SN8 (CD79b).

Am J Clin Pathol 1997 ; 108 (4) : 378-82.

130. MORENO C, HODGSON K, FERRER G, ELENA M, FILELLA X, PEREIRA A, *et al.*

Autoimmune cytopenia in chronic lymphocytic leukemia : prevalence, clinical associations, and prognostic significance.

Blood 2010 ; 116 (23) : 4771-6.

131. MORILLA A, GONZALEZ DE CASTRO D, DEL GIUDICE I, OSUJI N, ELSE M, MORILLA R, *et al.*
Combinations of ZAP-70, CD38 and IGHV mutational status as predictors of time to first treatment in CLL.
Leuk Lymphoma 2008 ; 49 (11) : 2108-15.
132. MUTLUAY R, AKI SZ, ERTEN Y, KONCA C, YAGCI M, BARIT G, *et al.*
Membranoproliferative glomerulonephritis and light-chain nephropathy in association with chronic lymphocytic leukemia.
Clin Nephrol 2008 ; 70 (6) : 527-31.
133. MYINT H, COPPLESTONE JA, ORCHARD J, CRAIG V, CURTIS D, PRENTICE AG, *et al.*
Fludarabine-related autoimmune haemolytic anaemia in patients with chronic lymphocytic leukaemia.
Br J Haematol 1995 ; 91 (2) : 341-4.
134. NASR SH, SNYDER RW, BHAGAT G, MARKOWITZ GS.
Chronic lymphocytic leukemia and cryoglobulinemic glomerulonephritis.
Kidney Int 2007 ; 71 (2) : 93.
135. NAYLOR M, CAPRA JD.
Mutational status of Ig V(H) genes provides clinically valuable information in B-cell chronic lymphocytic leukemia.
Blood 1999 ; 94 (6) : 1837-9.
136. NISHIDA H, MURASE T, UENO H, PARK JW, YANO T, IKEDA Y.
Fludarabine-associated autoimmune hemolytic anemia occurring in B-cell chronic lymphocytic leukemia.
Leuk Res 2006 ; 30 (12) : 1589-90.
137. ORCHARD JA, IBBOTSON RE, DAVIS Z, WIESTNER A, ROSENWALD A, THOMAS PW, *et al.*
ZAP-70 expression and prognosis in chronic lymphocytic leukaemia.
Lancet 2004 ; 363 (9403) : 105-11.
138. OSCIER DG, MATUTES E, COPPLESTONE A, PICKERING RM, CHAPMAN R, GILLINGHAM R, *et al.*
Atypical lymphocyte morphology : an adverse prognostic factor for disease progression in stage A CLL independent of trisomy 12.
Br J Haematol 1997 ; 98 (4) : 934-9.
139. OTTON SH, TURNER DL, FREWIN R, DAVIES SV, JOHNSON SA.
Autoimmune thrombocytopenia after treatment with Campath 1H in a patient with chronic lymphocytic leukaemia.
Br J Haematol 1999 ; 106 (1) : 261-2.
140. PACKMAN CH.
Hemolytic anemia due to warm autoantibodies.
Blood Rev 2008 ; 22 (1) : 17-31.

141. PAYDAS S.

Fludarabine-induced hemolytic anemia : successful treatment by rituximab.

Hematol J 2004 ; 5 (1) : 81-3.

142. POWELL AM, ALBERT S, OYAMA N, SAKUMA-OYAMA Y, BHOGAL B, BLACK MM.

Paraneoplastic pemphigus secondary to fludarabine evolving into unusual oral pemphigus vegetans.

J Eur Acad Dermatol Venereol 2004 ; 18 (3) : 360-4.

143. QIAN SX, LI JY, HONG M, XU W, QIU HX.

Nonhematological autoimmunity (glomerulosclerosis, paraneoplastic pemphigus and paraneoplastic neurological syndrome) in a patient with chronic lymphocytic leukemia : Diagnosis, prognosis and management.

Leuk Res 2009 ; 33 (3) : 500-5.

144. RAI KR, SAWITSKY A, CRONKITE EP, CHANANA AD, LEVY RN, PASTERNAK BS.

Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia.

Blood 1975 ; 46 (2) : 219-34.

145. RASSENTI LZ, HUYNH L, TOY TL, CHEN L, KEATING MJ, GRIBBEN JG, *et al.*

ZAP-70 compared with immunoglobulin heavy-chain gene mutation status as a predictor of disease progression in chronic lymphocytic leukemia.

N Engl J Med 2004 ; 351 (9) : 893-901.

146. RASSENTI LZ, JAIN S, KEATING MJ, WIERDA WG, GREVER MR, BYRD JC, *et al.*

Relative value of ZAP-70, CD38, and immunoglobulin mutation status in predicting aggressive disease in chronic lymphocytic leukemia.

Blood 2008 ; 112 (5) : 1923-30.

147. RICHES JC, RAMSAY AG, GRIBBEN JG.

T-cell function in chronic lymphocytic leukaemia.

Semin Cancer Biol 2010 ; 20 (6) : 431-8.

148. RIGAL D, MEYER F.

Autoimmune haemolytic anemia : diagnosis strategy and new treatments.

Transfus Clin Biol 2011 ; 18 (2) : 277-85.

149. ROBAK T, BLASINSKA-MORAWIEC M, KRYKOWSKI E, HELLMANN A, KONOPKA L.

Autoimmune haemolytic anaemia in patients with chronic lymphocytic leukaemia treated with 2-chlorodeoxyadenosine (cladribine).

Eur J Haematol 1997 ; 58 (2) : 109-13.

150. ROBAK T, BLONSKI JZ, KASZNICKI M, BLASINSKA-MORAWIEC M, KRYKOWSKI E, DMOSZYNSKA A, *et al.*
Cladribine with prednisone versus chlorambucil with prednisone as first-line therapy in chronic lymphocytic leukemia : report of a prospective, randomized, multicenter trial.
Blood 2000 ; 96 (8) : 2723-9.
151. RODON P, BRETON P, COUROUBLE G.
Treatment of pure red cell aplasia and autoimmune haemolytic anaemia in chronic lymphocytic leukaemia with Campath-1H.
Eur J Haematol 2003 ; 70 (5) : 319-21.
152. ROSENWALD A, ALIZADEH AA, WIDHOPF G, SIMON R, DAVIS RE, YU X, *et al.*
Relation of gene expression phenotype to immunoglobulin mutation genotype in B cell chronic lymphocytic leukemia.
J Exp Med 2001 ; 194 (11) : 1639-47.
153. ROSSIGNOL J, MICHALLET AS, OBERIC L, PICARD M, GARON A, WILLEKENS C, *et al.*
Rituximab-cyclophosphamide-dexamethasone combination in the management of autoimmune cytopenias associated with chronic lymphocytic leukemia.
Leukemia 2011 ; 25 (3) : 473-8.
154. ROYER B, VAIDA I, ETIENNE A, GARIDI R, DAMAJ G, MAROLLEAU JP.
Treatment of severe autoimmune hemolytic anemia in B-cell chronic lymphocytic leukemia with alemtuzumab.
Leukemia 2007 ; 21 (8) : 1841-2 ; author reply 2-3.
155. RUESS-BORST MA, WALLER HD, MULLER CA.
Successful treatment of steroid-resistant hemolysis in chronic lymphocytic leukemia with cyclosporine A.
Am J Hematol 1994 ; 46 (4) : 375-6.
156. RUZICKOVA S, PRUSS A, ODENDAHL M, WOLBART K, BURMESTER GR, SCHOLZE J, *et al.*
Chronic lymphocytic leukemia preceded by cold agglutinin disease : intracлонаl immunoglobulin light-chain diversity in V(H)4-34 expressing single leukemic B cells.
Blood 2002 ; 100 (9) : 3419-22.
157. SALLAH S, WAN JY, HANRAHAN LR.
Future development of lymphoproliferative disorders in patients with autoimmune hemolytic anemia.
Clin Cancer Res 2001 ; 7 (4) : 791-4.
158. SCHIERL M, FOEDINGER D, GEISSLER K, RAPPERSBERGER K, FELDMANN R.
Paraneoplastic pemphigus despite treatment with rituximab, fludarabine and cyclophosphamide in chronic lymphocytic leukemia.
Eur J Dermatol 2008 ; 18 (6) : 717-8.

159. SCHNAITER A, STILGENBAUER S.
Refractory chronic lymphocytic leukemia--new therapeutic strategies.
Oncotarget 2010 ; 1 (7) : 472-82.
160. SCOTT RB.
Leukaemia.
Lancet 1957 ; 272 (6980) : 1162-7.
161. SEFTEL MD, DEMERS AA, BANERJI V, GIBSON SB, MORALES C, MUSTO G, *et al.*
High incidence of chronic lymphocytic leukemia (CLL) diagnosed by immunophenotyping : a population-based Canadian cohort.
Leuk Res 2009 ; 33 (11) : 1463-8.
162. SEGALEN I, SIOHAN P, PODEUR L, WEHBE B, HUTIN P, LELLOUCHE F.
[Acquired factor XI inhibitor and chronic lymphocytic leukemia].
Rev Med Interne 2008 ; 29 (10) : 832-3.
163. SHVIDEL L, SHTALRID M, BERREBI A.
Intractable autoimmune hemolytic anemia in B cell chronic lymphocytic leukemia resolved by Rituximab.
Leuk Lymphoma 2004 ; 45 (7) : 1493-4.
164. SIVAKUMARAN M, BHAVNANI M.
Cyclosporin therapy for pure red cell aplasia in patients with chronic lymphocytic leukemia.
Am J Hematol 1994 ; 45 (2) : 192.
165. SMOLEJ L.
Fludarabine-induced autoimmune hemolytic anemia in a CLL patient : rituximab as the treatment of choice?
Leuk Res 2007 ; 31 (2) : 267 ; author reply 8-9.
166. STHOEGER ZM, WAKAI M, TSE DB, VINCIGUERRA VP, ALLEN SL, BUDMAN DR, *et al.*
Production of autoantibodies by CD5-expressing B lymphocytes from patients with chronic lymphocytic leukemia.
J Exp Med 1989 ; 169 (1) : 255-68.
167. STILGENBAUER S, DOHNER H.
Campath-1H-induced complete remission of chronic lymphocytic leukemia despite p53 gene mutation and resistance to chemotherapy.
N Engl J Med 2002 ; 347 (6) : 452-3.
168. STILGENBAUER S, SANDER S, BULLINGER L, BENNER A, LEUPOLT E, WINKLER D, *et al.*
Clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia : acquisition of high-risk genomic aberrations associated with unmutated VH, resistance to therapy, and short survival.
Haematologica 2007 ; 92 (9) : 1242-5.

169. TAINTOR AR, LEIFERMAN KM, HASHIMOTO T, ISHII N, ZONE JJ, HULL CM.
A novel case of IgA paraneoplastic pemphigus associated with chronic lymphocytic leukemia.
J Am Acad Dermatol 2007 ; 56 (5 Suppl) : S73-6.
170. TOBIN G, THUNBERG U, JOHNSON A, THORN I, SODERBERG O, HULTDIN M,
et al.
Somatically mutated Ig V(H)3-21 genes characterize a new subset of chronic lymphocytic leukemia.
Blood 2002 ; 99 (6) : 2262-4.
171. VALLESPI T, MONTSERRAT E, SANZ MA.
Chronic lymphocytic leukaemia : prognostic value of lymphocyte morphological subtypes. A multivariate survival analysis in 146 patients.
Br J Haematol 1991 ; 77 (4) : 478-85.
172. VISCO C, GIARETTA I, RUGGERI M, MADEO D, TOSETTO A, RODEGHIRO F.
Un-mutated IgVH in chronic lymphocytic leukemia is associated with a higher risk of immune thrombocytopenia.
Leukemia 2007 ; 21 (5) : 1092-3.
173. VISCO C, NOVELLA E, PEOTTA E, PAOLINI R, GIARETTA I, RODEGHIRO F.
Autoimmune hemolytic anemia in patients with chronic lymphocytic leukemia is associated with IgVH status.
Haematologica 2010 ; 95 (7) : 1230-2.
174. VISCO C, RUGGERI M, LAURA EVANGELISTA M, STASI R, ZANOTTI R,
GIARETTA I, *et al.*
Impact of immune thrombocytopenia on the clinical course of chronic lymphocytic leukemia.
Blood 2008 ; 111 (3) : 1110-6.
175. WEISS RB, FREIMAN J, KWEDER SL, DIEHL LF, BYRD JC.
Hemolytic anemia after fludarabine therapy for chronic lymphocytic leukemia.
J Clin Oncol 1998 ; 16 (5) : 1885-9.
176. WELLS T, KOVACS MJ.
Autoimmune thrombocytopenia due to chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine.
Ann Pharmacother 2003 ; 37 (5) : 671-4.
177. WRIGHT SJ, KEATING MJ.
Cyclosporine A in chronic lymphocytic leukemia : dual anti-leukemic and immunosuppressive role?
Leuk Lymphoma 1995 ; 20 (1-2) : 131-6.
178. XU W, LI JY, MIAO KR, CAO X, LIU Q, FAN L, *et al.*
The negative prognostic significance of positive direct antiglobulin test in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia.
Leuk Lymphoma 2009 ; 50 (9) : 1482-7.

179. YEGIN ZA, YAGCI M, HAZNEDAR R.
Cold agglutinin disease with IgG monoclonal gammopathy in a case of chronic lymphocytic leukemia : an unusual presentation.
Transfus Apher Sci 2009 ; 40 (3) : 219-20.

180. YILDIZ O, OZGUROGLU M, YANMAZ MT, TURNA H, KURSUNOGLU SG, ANTONOV M, *et al.*
Paraneoplastic pemphigus associated with fludarabine use.
Med Oncol 2007 ; 24 (1) : 115-8.

181. YUILLE MR, MATUTES E, MAROSSY A, HILDITCH B, CATOVSKY D, HOULSTON RS.
Familial chronic lymphocytic leukaemia : a survey and review of published studies.
Br J Haematol 2000 ; 109 (4) : 794-9.

182. ZAJA F, VIANELLI N, SPEROTTO A, PATRIARCA F, TANI M, MARIN L, *et al.*
Anti-CD20 therapy for chronic lymphocytic leukemia-associated autoimmune diseases.
Leuk Lymphoma 2003 ; 44 (11) : 1951-5.

183. ZANOTTI R, FRATTINI F, GHIA P, VISCO C, ZAMO A, PERBELLINI O, *et al.*
ZAP-70 expression is associated with increased risk of autoimmune cytopenias in CLL patients.
Am J Hematol 2010 ; 85 (7) : 494-8.

184. ZENT CS, DING W, REINALDA MS, SCHWAGER SM, HOYER JD, BOWEN DA, *et al.*
Autoimmune cytopenia in chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma : changes in clinical presentation and prognosis.
Leuk Lymphoma 2009 ; 50 (8) : 1261-8.

185. ZENT CS, DING W, SCHWAGER SM, REINALDA MS, HOYER JD, JELINEK DF, *et al.*
The prognostic significance of cytopenia in chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma.
Br J Haematol 2008 ; 141 (5) : 615-21.

186. ZENT CS, KAY NE.
Autoimmune complications in chronic lymphocytic leukaemia (CLL).
Best Pract Res Clin Haematol 2010 ; 23 (1) : 47-59.

187. ZENT CS, KYASA MJ, EVANS R, SCHICHMAN SA.
Chronic lymphocytic leukemia incidence is substantially higher than estimated from tumor registry data.
Cancer 2001 ; 92 (5) : 1325-30.

188. ZENZ T, EICHHORST B, BUSCH R, DENZEL T, HABE S, WINKLER D, *et al.*
TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia.
J Clin Oncol 2010 ; 28 (29) : 4473-9.

189. ZENZ T, FROHLING S, MERTENS D, DOHNER H, STILGENBAUER S.
Moving from prognostic to predictive factors in chronic lymphocytic leukaemia (CLL).
Best Pract Res Clin Haematol 2010 ; 23 (1) : 71-84.
190. ZENZ T, KROBER A, SCHERER K, HABE S, BUHLER A, BENNER A, *et al.*
Monoallelic TP53 inactivation is associated with poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia : results from a detailed genetic characterization with long-term follow-up.
Blood 2008 ; 112 (8) : 3322-9.
191. ZIAKAS PD, GIANNOULI S, PSIMENOU E, NAKOPOULOU L, VOULGARELIS M.
Membranous glomerulonephritis in chronic lymphocytic leukemia.
Am J Hematol 2004 ; 76 (3) : 271-4.

ANNEXE 1. TEST DE COOMBS DIRECT

L'objectif du test de Coombs direct est de mettre en évidence la présence d'anticorps à la surface des hématies. Il est réalisé à partir d'un prélèvement sanguin. Le gel test est actuellement la technique de référence et a remplacé la technique en tube [148].

Le test de Coombs direct consiste à mettre les érythrocytes du malade en présence d'une antiglobuline polyvalente (sérum de lapin immunisé contre les immunoglobulines humaines). Il est toujours réalisé à 4°C et à 37°C. La présence d'anticorps à la surface des hématies va entraîner une agglutination facilement détectable après adjonction d'antiglobuline. En cas de positivité, la nature de l'auto-anticorps peut être déterminée en réalisant le même test avec des antiglobulines monospécifiques : anti-IgG, anti-IgM ou anti-C3d.

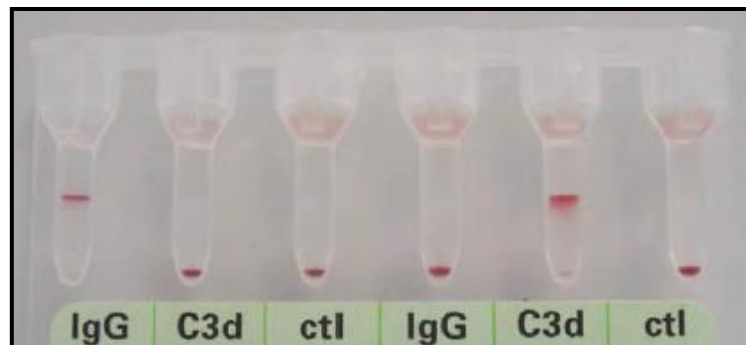


Figure 9. Exemple de test de Coombs direct positif [148].

Panel de gauche : test de Coombs direct positif en IgG. Panel de droite : test de Coombs direct positif en C3d.

La spécificité de l'anticorps peut ensuite être déterminée soit par élution, soit en réalisant un test de Coombs indirect. L'élution consiste à détacher les anticorps de la surface des hématies par des méthodes physiques ou chimiques. Le test de Coombs indirect est réalisé à partir du sérum du malade. L'éluat ou le sérum est ensuite incubé avec des hématies test dont les antigènes membranaires sont connus. Après lavage, l'agglutination en présence d'antiglobuline permet la détermination de la spécificité de l'anticorps.

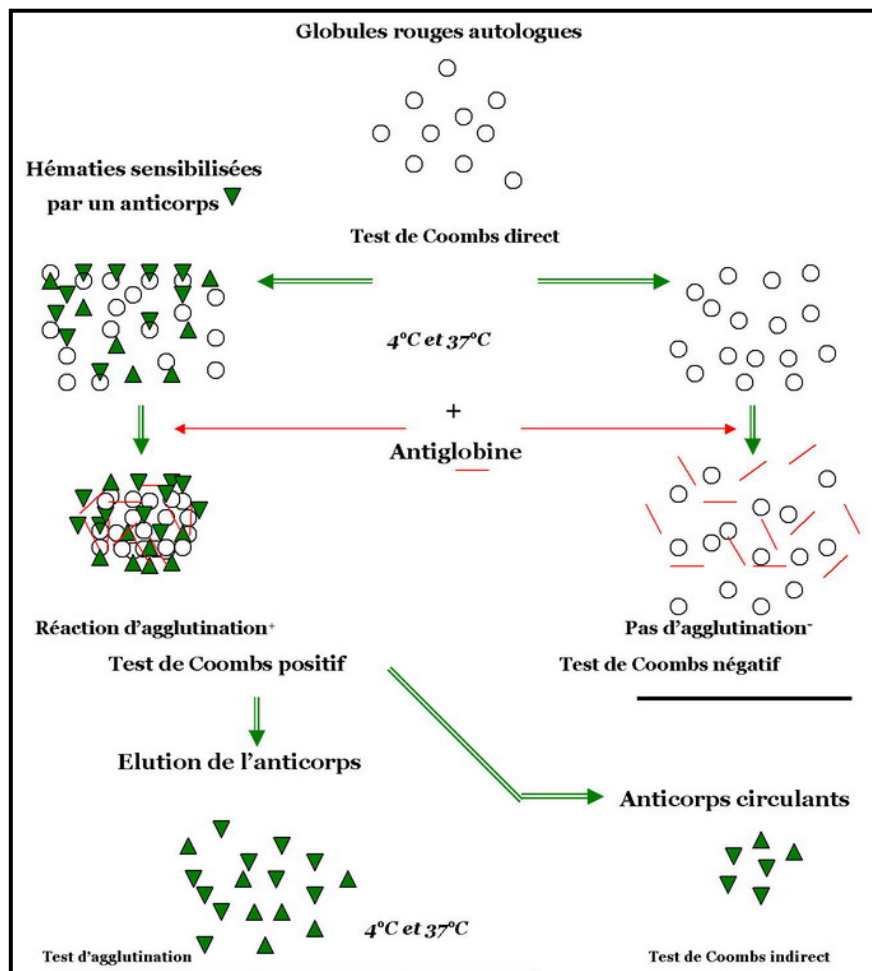


Figure 10. Principe du test de Coombs direct

ANNEXE 2. DONNEES CLINICO-BIOLOGIQUES COLLECTEES

1. Caractéristiques de la LLC au diagnostic

- Hémogramme : taux d'hémoglobine, de plaquettes, de leucocytes, de lymphocytes, de polynucléaires neutrophiles et de réticulocytes
- Score RMH (Matutes)
- Facteurs pronostiques :
 - Stade de Binet
 - B2-microglobuline
 - Expression du CD38 (positive en cas d'expression du CD38 par au moins 7% de cellules doublement marquées CD5 et CD19)
 - Expression de Zap-70
 - Cytogénétique conventionnelle (caryotype)
 - FISH 4 sondes (del 13q, del 11q, trisomie 12 et del 17p)
 - Statut mutationnel du gène des IgVH
- Taux de LDH (rapporté à la norme de chaque laboratoire)
- Test de Coombs direct
- Diamètre de la plus grosse adénopathie (en cm)
- Débord splénique (en cm)
- Performance status

2. Traitements de la LLC

- Date de début et date de fin de traitement
- Type de traitement
- Nombre de cures
- Réponse de la LLC au traitement

3. Anémie hémolytique auto-immune au diagnostic

- Hémogramme : taux d'hémoglobine, de plaquettes, de leucocytes, de lymphocytes, de polynucléaires neutrophiles et de réticulocytes, VGM
- Test de Coombs direct
- Taux de LDH et de bilirubine (xVSN)
- Haptoglobine
- Stade de Binet
- Diamètre de la plus grosse adénopathie (cm)
- Débord splénique (cm)
- Performance status

4. Traitement de l'anémie hémolytique auto-immune

- Transfusion : oui / non
- Erythropoïétine : oui / non
- Date de début et date de fin de traitement
- Type de traitement
- Nombre de cures
- Nombre de semaines de corticothérapie à pleine dose
- Bilan biologique 3 mois maximum après la fin du traitement
 - Hémogramme : taux d'hémoglobine, de réticulocytes, de plaquettes et de leucocytes
 - Test de Coombs direct
 - Taux de LDH et de bilirubine (rapportés à la norme du laboratoire)
 - Haptoglobine
- Réponse de la LLC au traitement de l'AHAI
- Complications

5. **Dernières nouvelles**

- Date des dernières nouvelles
- Patient vivant ou non, date de décès
- LLC évolutive ou non
- Stade de Binet
- Performance status

ANNEXE 3. PRINCIPAUX SCHEMAS THERAPEUTIQUES

1. Corticothérapie continue

- Prednisone ou prednisolone
- Posologie initiale : 1 à 2 mg/kg/jour
- Durée à pleine dose variable
- Puis décroissance progressive sur plusieurs mois voire années et arrêt

2. Rituximab

- 4 perfusions hebdomadaires pour le traitement de l'anémie hémolytique auto-immune
- Pas d'indication à un traitement de maintenance

Tableau 23. Rituximab pour le traitement de l'AHAI

Rituximab
Rituximab IV 375mg/m ²
J1, J8, J15, J22

3. RCD

- Chimiothérapie associant rituximab, cyclophosphamide et dexaméthasone
- Deux schémas possibles, d'efficacité similaire selon la littérature [153]
- Nombre de cycles habituellement prescrits : 6

Tableau 24. Comparaisons des deux protocoles RCD

	Schéma standard	Schéma condensé
Posologie	Rituximab IV 375 mg/m ² J1 Cyclophosphamide IV 750 mg/m ² J2 Dexamethasone po 12 mg J1 à J7	Rituximab IV 375 mg/m ² J1 Cyclophosphamide IV 1000mg J1 Dexamethasone IV 40mg J1
Durée du cycle	28 jours	14 jours

IV : intraveineux, po : per os

4. ChOP LLC associé ou non au rituximab

- Chimiothérapie comportant du cyclophosphamide, de la doxorubicine, de la vincristine et de la prednisone +/- du rituximab
- Durée du cycle de chimiothérapie : 28 jours
- Nombre de cycles habituellement prescrits : 6 à 12

Tableau 25. Protocole ChOP LLC associé ou non au rituximab

(R)-ChOP LLC
Vincristine IV 1 mg/m ² J1 Doxorubicine 25 mg/m ² J1 Cyclophosphamide 500 mg/m ² po J1 à J5 Prednisone 40 mg/m ² po J1 à J5 (Rituximab 375 à 500 mg/m ² J1)

5. Alemtuzumab

- Alemtuzumab en monothérapie ou en association à la dexaméthasone
- Durée habituelle du traitement : 3 cycles de 4 semaines

Tableau 26. Alemtuzumab associé ou non à la dexaméthasone

Alemtuzumab
Alemtuzumab 30 mg sc x 3/sem +/- dexaméthasone 40mg J1 à J4 et J15 à J18

6. FCR

- Association de fludarabine, cyclophosphamide et rituximab
- Durée du cycle de chimiothérapie : 28 jours
- Nombre de cycle habituellement prescrits : 6

Tableau 27. FCR

FCR
Fludarabine 40 mg/m ² po J1 à J3 Cyclophosphamide 250 mg/m ² po J1 à J3 Rituximab 375 mg/m ² C1 puis 500mg/m ² J1

C1 : première cure

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	4
GENERALITES SUR LA LEUCEMIE LYMPHOIDE CHRONIQUE	5
1. Définition et épidémiologie	5
2. Diagnostic	5
3. Physiopathologie	7
3.1. <i>Origine de la cellule leucémique</i>	7
3.2. <i>Prolifération cellulaire, résistance à l'apoptose, rôle du microenvironnement</i>	8
4. Facteurs pronostiques	9
4.1. <i>Paramètres anatomo-cliniques</i>	9
4.2. <i>Facteurs pronostiques issus de l'hémogramme</i>	12
4.3. <i>Marqueurs sériques</i>	12
4.4. <i>Anomalies cytogénétiques</i>	12
4.4.1. <i>Délétion du bras long du chromosome 13 (del 13q14)</i>	13
4.4.2. <i>Délétion du bras long du chromosome 11 (del 11q22.23)</i>	13
4.4.3. <i>Délétion du bras court du chromosome 17 (del 17p13)</i>	13
4.4.4. <i>Trisomie 12</i>	14
4.4.5. <i>Autres anomalies chromosomiques</i>	14
4.5. <i>Statut mutationnel des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines</i>	15
4.6. <i>Marqueurs immunophénotypiques</i>	17
4.6.1. <i>Le CD38</i>	17
4.6.2. <i>Zap-70</i>	17
5. Traitement spécifique de la LLC	18
5.1. <i>Traitement de première ligne</i>	19
5.2. <i>Traitement de la rechute</i>	20

AUTO-IMMUNITE ASSOCIEE A LA LEUCEMIE LYMPHOIDE CHRONIQUE	21
1. Auto-immunité non hématologique.....	21
1.1. Pemphigus paranéoplasique.....	21
1.2. Angioœdème acquis	22
1.3. Glomérulonéphrite	22
1.4. Autres atteintes organiques	22
2. Cytopénies auto-immunes.....	23
2.1. Incidence des cytopénies auto-immunes	23
2.2. Facteurs associés aux cytopénies auto-immunes	24
2.3. Auto-immunité déclenchée par le traitement	25
2.4. Diagnostic des cytopénies auto-immunes	26
2.4.1. Anémie hémolytique auto-immune.....	26
2.4.2. Purpura thrombopénique immunologique.....	28
2.4.3. Erythroblastopénie auto-immune.....	29
2.5. Physiopathologie de l'anémie hémolytique associée à la LLC	29
2.5.1. Origine des auto-anticorps.....	30
2.5.2. Dysfonction lymphocytaire T	30
2.5.3. Présentation d'antigènes par les cellules tumorales	31
2.5.4. Anémie hémolytique auto-immune et fludarabine	31
2.6. Pronostic des cytopénies auto-immunes associées à la LLC	32
2.7. Traitement de l'anémie hémolytique auto-immune	34
2.7.1. Prise en charge non spécifique.....	34
2.7.2. Traitement de l'anémie hémolytique auto-immune « simple »	35
2.7.3. Traitement de l'anémie hémolytique « complexe »	38
MATERIEL ET METHODES	41
1. Patients.....	41
2. Critères diagnostiques.....	41
2.1. Diagnostic de leucémie lymphoïde chronique	41
2.2. Diagnostic d'anémie hémolytique auto-immune.....	42
3. Traitements de l'anémie hémolytique auto-immune	42
4. Réponse au traitement	42
4.1. Réponse de la leucémie lymphoïde chronique au traitement	42
4.2. Réponse de l'anémie hémolytique auto-immune au traitement.....	44
5. Analyse statistique.....	45

RESULTATS	47
1. Caractéristiques des patients	47
2. Caractéristiques de la leucémie lymphoïde chronique	47
2.1. <i>Caractéristiques de la leucémie lymphoïde chronique au diagnostic</i>	47
2.2. <i>Facteurs pronostiques biologiques de la leucémie lymphoïde chronique</i>	49
2.3. <i>Traitement de la LLC avant la survenue de l'anémie hémolytique</i>	49
2.4. <i>Survie depuis le diagnostic de leucémie lymphoïde chronique</i>	51
3. Anémie hémolytique auto-immune	52
3.1. <i>Caractéristiques clinico-biologiques</i>	52
3.2. <i>AHAI « simple » et AHAI « complexe »</i>	54
3.3. <i>Traitements de l'anémie hémolytique auto-immune</i>	55
3.4. <i>Evaluation des critères de réponse de l'anémie hémolytique auto-immune</i>	58
3.5. <i>Réponse de l'anémie hémolytique auto-immune</i>	59
3.6. <i>Réponse de la leucémie lymphoïde chronique</i>	62
ANNEXES	103
TABLE DES MATIERES	111

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et selon la tradition d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis (e) dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux (se) et reconnaissant (e) envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

QUINQUENEL Anne

ANEMIE HEMOLYTIQUE AUTO-IMMUNE ASSOCIEE A LA LEUCEMIE LYMPHOIDE CHRONIQUE : ETUDE RETROSPECTIVE ET MULTICENTRIQUE DE 48 OBSERVATIONS.

Thèse d'exercice. Mention « Médecine spécialisée ». Reims, 2011

RESUME :

La leucémie lymphoïde chronique est la leucémie de l'adulte la plus fréquente dans les pays occidentaux. Dans environ 5% des cas, elle est compliquée d'anémie hémolytique auto-immune, dont le mécanisme physiopathologique n'est pas clairement établi. Il n'existe aucun consensus sur la prise en charge de cette anémie hémolytique auto-immune.

Nous avons mené une étude rétrospective multicentrique à partir des observations de 48 patients issus de 4 centres de référence sur la prise en charge de la LLC. L'évaluation des critères pronostiques a retrouvé une fréquence importante de facteurs péjoratifs tels l'expression du CD38 et de Zap-70 et le statut « non muté » du gène des IgVH. L'analyse cytogénétique par FISH a retrouvé une incidence élevée de délétion 11q (33% des patients).

La prise en charge thérapeutique des patients issus de cette cohorte est très hétérogène et il est difficile de définir le meilleur traitement de l'anémie hémolytique auto-immune.

Le recueil systématique de tous les nouveaux cas ainsi que l'élaboration d'un essai thérapeutique devraient permettre de mieux appréhender les caractéristiques de cette pathologie et de définir le meilleur traitement de première ligne.

MOTS CLES

- Leucémie chronique lymphocytaire à cellules B
- Anémie hémolytique auto-immune

JURY

Président : Monsieur le Professeur Alain DELMER

Assesseurs : Madame le Professeur Florence AJCHENBAUM-CYMBALISTA

Monsieur le Professeur Vincent LEVY

Madame le Docteur Brigitte KOLB

ADRESSE AUTEUR

11 rue Raymond Guyot
51100 Reims