HAL
open science

Expression de la molécule CD5 dans une série de patients atteints de Leucémie Lymphoïde Chronique

Caroline Serrier

To cite this version:

Caroline Serrier. Expression de la molécule CD5 dans une série de patients atteints de Leucémie Lymphoïde Chronique. Sciences du Vivant [q-bio]. 2012. hal-01733139

HAL Id: hal-01733139

https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733139v1

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITÉ DE LORRAINE FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY
2012

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement dans le cadre
du troisième cycle de Médecine Spécialisée

par

Caroline SERRIER

le 07 juin 2012

Expression de la molécule CD5 dans une série de patients atteints de Leucémie Lymphoïde Chronique

Examinateurs de la thèse :

Monsieur le Professeur Pierre FEUGIER	Président
Monsieur le Professeur Ali DALLOUL	Juge
Monsieur le Professeur Laurent MAUVIEUX	Juge
Monsieur le Docteur Jean-François LESESVE	Juge

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

Administrateur Provisoire de l'Université de Lorraine : Professeur Jean-Pierre FINANCE

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE

Vice Doyen « Pédagogie » : Professeur Karine ANGIOI
Vice Doyen *Mission « sillon lorrain »* : Professeur Annick BARBAUD
Vice Doyen *Mission « Campus »* : Professeur Marie-Christine BÉNÉ
Vice Doyen *Mission « Finances » :* Professeur Marc BRAUN
Vice Doyen Mission « *Recherche »* : Professeur Jean-Louis GUÉANT

Assesseurs :	
- 1er Cycle :	**Professeur Bruno CHENUEL**
- « Première année commune aux études de santé (PACES) et universitarisation études para-médicales »	**M. Christophe NÉMOS**
- 2ème Cycle :	**Professeur Marc DEBOUVERIE**
- 3ème Cycle :	
« DES Spécialités Médicales, Chirurgicales et Biologiques »	**Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI**
« DES Spécialité Médecine Générale	**Professeur Francis RAPHAËL**
- Filières professionnalisées :	**M. Walter BLONDEL**
- Formation Continue :	**Professeur Hervé VESPIGNANI**
- Commission de Prospective :	**Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT**
- Recherche :	**Professeur Didier MAINARD**
- Développement Professionnel Continu :	**Professeur Jean-Dominique DE KORWIN**
Assesseurs Relations Internationales	**Professeur Jacques HUBERT**

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX
Professeur Jacques ROLAND – Professeur Patrick NETTER

==========

PROFESSEURS HONORAIRES

Pierre ALEXANDRE – Jean-Marie ANDRE - Daniel ANTHOINE - Alain BERTRAND - Pierre BEY – Patrick BOISSEL
Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL
Claude CHARDOT - Jean-Pierre CRANCE - Gérard DEBRY - Jean-Pierre DELAGOUTTE - Emile de LAVERGNE
Jean-Pierre DESCHAMPS - Michel DUC - Jean DUHEILLE - Adrien DUPREZ - Jean-Bernard DUREUX - Gérard FIEVE Jean FLOQUET - Robert FRISCH - Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Hubert GERARD
Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Oliéro GUERCI - Pierre HARTEMANN - Claude HURIET
Christian JANOT – Michèle KESSLER - Jacques LACOSTE - Henri LAMBERT - Pierre LANDES - Alain LARCAN
Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Jacques LECLERE - Pierre LEDERLIN - Bernard LEGRAS
Michel MANCIAUX - Jean-Pierre MALLIÉ – Philippe MANGIN - Pierre MATHIEU - Denise MONERET-VAUTRIN
Pierre MONIN - Pierre NABET - Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis PENIN - Gilbert PERCEBOIS Claude PERRIN - Guy PETIET - Luc PICARD - Michel PIERSON - Jean-Marie POLU – Jacques POUREL
Jean PREVOT - Antoine RASPILLER - Michel RENARD - Jacques ROLAND - René-Jean ROYER -

Daniel SCHMITT Michel SCHWEITZER – Claude SIMON - Jean SOMMELET - Danièle SOMMELET – Jean-François STOLTZ
Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Augusta TREHEUX - Hubert UFFHOLTZ - Gérard VAILLANT - Paul VERT Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Michel WAYOFF - Michel WEBER

==========

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS
PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42ème Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE
1ère sous-section : *(Anatomie)*
Professeur Gilles GROSDIDIER
Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN
2ème sous-section : *(Cytologie et histologie)*
Professeur Bernard FOLIGUET
3ème sous-section : *(Anatomie et cytologie pathologiques)*
Professeur François PLENAT – Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE
1ère sous-section : *(Biophysique et médecine nucléaire)*
Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER
2ème sous-section : *(Radiologie et imagerie médicale)*
Professeur Denis REGENT – Professeur Michel CLAUDON – Professeur Valérie CROISÉ-LAURENT
Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER
Professeur René ANXIONNAT

44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION
1ère sous-section : *(Biochimie et biologie moléculaire)*
Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER – Professeur Bernard NAMOUR
2ème sous-section : *(Physiologie)*
Professeur François MARCHAL – Professeur Bruno CHENUEL – Professeur Christian BEYAERT
3ème sous-section : *(Biologie Cellulaire)*
Professeur Ali DALLOUL
4ème sous-section : *(Nutrition)*
Professeur Olivier ZIEGLER – Professeur Didier QUILLIOT - Professeur Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

45ème Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE
1ère sous-section : *(Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)*
Professeur Alain LE FAOU - Professeur Alain LOZNIEWSKI
3ème sous-section : *(Maladies infectieuses ; maladies tropicales)*
Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ
1ère sous-section : *(Épidémiologie, économie de la santé et prévention)*
Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN
Professeur Denis ZMIROU-NAVIER – Professeur François ALLA
2ème sous-section : *(Médecine et santé au travail)*
Professeur Christophe PARIS
3ème sous-section : *(Médecine légale et droit de la santé)*
Professeur Henry COUDANE
4ème sous-section : *(Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)*
Professeur François KOHLER – Professeur Éliane ALBUISSON

47ème Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE
1ère sous-section : *(Hématologie ; transfusion)*
Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI
Professeur Jean-François STOLTZ – Professeur Pierre FEUGIER
2ème sous-section : *(Cancérologie ; radiothérapie)*
Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY
Professeur Didier PEIFFERT – Professeur Frédéric MARCHAL

3ème sous-section : *(Immunologie)*
Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE
4ème sous-section : *(Génétique)*
Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE
1ère sous-section : *(Anesthésiologie et réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence)*
Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Hervé BOUAZIZ
Professeur Paul-Michel MERTES – Professeur Gérard AUDIBERT – Professeur Thomas FUCHS-BUDER
2ème sous-section : *(Réanimation médicale ; médecine d'urgence)*
Professeur Alain GERARD - Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT
Professeur Bruno LÉVY – Professeur Sébastien GIBOT
3ème sous-section : *(Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)*
Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET
4ème sous-section : *(Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie)*
Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD - Professeur Patrick ROSSIGNOL

49ème Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP et RÉÉDUCATION
1ère sous-section : *(Neurologie)*
Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI
Professeur Xavier DUCROCQ – Professeur Marc DEBOUVERIE – Professeur Luc TAILLANDIER

2ème sous-section : *(Neurochirurgie)*
Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE – Professeur Olivier KLEIN
Professeur Thierry CIVIT
3ème sous-section : *(Psychiatrie d'adultes ; addictologie)*
Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN
4ème sous-section : *(Pédopsychiatrie ; addictologie)*
Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC – Professeur Bernard KABUTH
5ème sous-section : *(Médecine physique et de réadaptation)*
Professeur Jean PAYSANT

50ème Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE
1ère sous-section : *(Rhumatologie)*
Professeur Isabelle CHARY-VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE
2ème sous-section : *(Chirurgie orthopédique et traumatologique)*
Professeur Daniel MOLE - Professeur Didier MAINARD
Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS
3ème sous-section : *(Dermato-vénéréologie)*
Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD
4ème sous-section : *(Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)*
Professeur François DAP – Professeur Gilles DAUTEL

51ème Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE
1ère sous-section : *(Pneumologie ; addictologie)*
Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAOUAT
2ème sous-section : *(Cardiologie)*
Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL
Professeur Christian de CHILLOU
3ème sous-section : *(Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)*
Professeur Jean-Pierre VILLEMOT
4ème sous-section : *(Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)*
Professeur Denis WAHL – Professeur Sergueï MALIKOV

52ème Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE
1ère sous-section : *(Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)*
Professeur Marc-André BIGARD - Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI – Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET
3ème sous-section : *(Néphrologie)*

Professeur Dominique HESTIN – Professeur Luc FRIMAT
4ème sous-section : *(Urologie)*
Professeur Jacques HUBERT – Professeur Pascal ESCHWEGE

53ème Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE
1ère sous-section : *(Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie)*
Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY
Professeur Athanase BENETOS - Professeur Gisèle KANNY – Professeur Christine PERRET-GUILLAUME

2ème sous-section : *(Chirurgie générale)*
Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD – Professeur Ahmet AYAV

54ème Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION
1ère sous-section : *(Pédiatrie)*
Professeur Jean-Michel HASCOET - Professeur Pascal CHASTAGNER
Professeur François FEILLET - Professeur Cyril SCHWEITZER – Professeur Emmanuel RAFFO
2ème sous-section : *(Chirurgie infantile)*
Professeur Michel SCHMITT – Professeur Pierre JOURNEAU – Professeur Jean-Louis LEMELLE
3ème sous-section : *(Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)*
Professeur Jean-Louis BOUTROY - Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO
4ème sous-section : *(Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)*
Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

55ème Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU
1ère sous-section : *(Oto-rhino-laryngologie)*
Professeur Roger JANKOWSKI – Professeur Cécile PARIETTI-WINKLER
2ème sous-section : *(Ophtalmologie)*
Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Karine ANGIOI-DUPREZ
3ème sous-section : *(Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)*
Professeur Jean-François CHASSAGNE – Professeur Etienne SIMON

==========

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

64ème Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
Professeur Sandrine BOSCHI-MULLER

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE
Professeur Jean-Marc BOIVIN

==========

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42ème Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE
1ère sous-section : *(Anatomie)*
Docteur Bruno GRIGNON – Docteur Thierry HAUMONT – Docteur Manuela PEREZ
2ème sous-section : *(Cytologie et histologie)*
Docteur Edouard BARRAT - Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER
3ème sous-section : *(Anatomie et cytologie pathologiques)*
Docteur Aude BRESSENOT

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE
1ère sous-section : *(Biophysique et médecine nucléaire)*
Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER
Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE
2ème sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)

Docteur Damien MANDRY

44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1ère sous-section : *(Biochimie et biologie moléculaire)*

Docteur Jean STRACZEK – Docteur Sophie FREMONT

Docteur Isabelle GASTIN – Docteur Marc MERTEN – Docteur Catherine MALAPLATE-ARMAND

Docteur Shyue-Fang BATTAGLIA

3ème sous-section : ***(Biologie Cellulaire)***

Docteur Véronique DECOT-MAILLERET

45ème Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1ère sous-section : *(Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)*

Docteur Francine MORY – Docteur Véronique VENARD – Docteur Hélène JEULIN

2ème sous-section : *(Parasitologie et mycologie)*

Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU – Madame Marie MACHOUART

46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1ère sous-section : *(Epidémiologie, économie de la santé et prévention)*

Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE – Docteur Frédérique CLAUDOT – Docteur Cédric BAUMANN

2ème sous-section *(Médecine et Santé au Travail)*

Docteur Isabelle THAON

3ème sous-section *(Médecine légale et droit de la santé)*

Docteur Laurent MARTRILLE

4ère sous-section : *(Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*

Docteur Nicolas JAY

47ème Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

2ème sous-section : *(Cancérologie ; radiothérapie : cancérologie (type mixte : biologique)*

Docteur Lina BOLOTINE

3ème sous-section : *(Immunologie)*

Docteur Marcelo DE CARVALHO BITTENCOURT

4ème sous-section : *(Génétique)*

Docteur Christophe PHILIPPE – Docteur Céline BONNET

48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

3ème sous-section : *(Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)*

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT – Docteur Nicolas GAMBIER

50ème Section : RHUMATOLOGIE

1ère sous-section : ***(Rhumatologie)***

Docteur Anne-Christine RAT

3ème sous-section : *(Dermato-vénéréologie)*

Docteur Anne-Claire BURSZTEJN

53ème Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1ère sous-section : *(Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie)*

Docteur Laure JOLY

54ème Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

3ème sous-section :

Docteur Olivier MOREL

5ème sous-section : *(Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale)*
Docteur Jean-Louis CORDONNIER

==========

MAÎTRE DE CONFÉRENCE DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE
Docteur Elisabeth STEYER

==========

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5ème section : SCIENCE ÉCONOMIE GÉNÉRALE
Monsieur Vincent LHUILLIER
40ème section : SCIENCES DU MÉDICAMENT
Monsieur Jean-François COLLIN

60ème section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE
Monsieur Alain DURAND

61ème section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL
Monsieur Jean REBSTOCK – Monsieur Walter BLONDEL

64ème section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
Mademoiselle Marie-Claire LANHERS – Monsieur Pascal REBOUL – Mr Nick RAMALANJAONA

65ème section : BIOLOGIE CELLULAIRE
Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY
Madame Ketsia HESS – Monsieur Hervé MEMBRE – Monsieur Christophe NEMOS - Madame Natalia DE ISLA
Madame Nathalie MERCIER

66ème section : PHYSIOLOGIE
Monsieur Nguyen TRAN

67ème section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE
Madame Nadine MUSSE

PROFESSEURS ASSOCIÉS
Médecine Générale
Professeur associé Francis RAPHAEL

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS
Médecine Générale
Docteur Jean-Louis ADAM
Docteur Paolo DI PATRIZIO
Docteur Sophie SIEGRIST
Docteur Arnaud MASSON

========

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Jean-Marie ANDRÉ - Professeur Daniel ANTHOINE - Professeur Pierre BEY – Professeur Patrick BOISSEL
Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE – Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ
Professeur Simone GILGENKRANTZ - Professeur Michèle KESSLER - Professeur Henri LAMBERT
Professeur Alain LARCAN - Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Pierre MONIN
Professeur Jean-Pierre NICOLAS - Professeur Luc PICARD - Professeur Michel PIERSON
Professeur Jacques POUREL – Professeur Jean-François STOLTZ - Professeur Michel STRICKER
Professeur Gilbert THIBAUT - Professeur Hubert UFFHOLTZ – Professeur Paul VERT
Professeur Colette VIDAILHET - Professeur Michel VIDAILHET

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972)
Université de Stanford, Californie (U.S.A)
Professeur Paul MICHIELSEN (1979)
Université Catholique, Louvain (Belgique)
Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)

Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)
Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)

Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)

Harry J. BUNCKE (1989)
Université de Californie, San Francisco (U.S.A)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume Uni)

Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würtzburg (R.F.A)
Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)

Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur James STEICHEN (1997)
Université d'Indianapolis (U.S.A)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIÊTNAM)
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

REMERCIEMENTS

AU JURY

A Monsieur le Professeur Pierre Feugier, Président de Thèse

Professeur d'Hématologie

Merci d'avoir accepté de juger ce travail sur la Leucémie Lymphoïde Chronique, une des pathologies hématologiques que vous connaissez le mieux.

Merci pour vos connaissances en hématologie que vous m'avez transmises au fil de vos visites et des staffs du matin ainsi que votre culture générale. Désolé pour mon piètre niveau en histoire, je vais essayer de me remettre à niveau pour pouvoir répondre à vos prochaines questions !

Merci pour votre humour et votre bonne humeur que vous gardez en toute circonstance et pour votre disponibilité.

Que ce travail soit l'expression de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Ali Dalloul, Juge

Professeur de Biologie Cellulaire

Pour qui la Leucémie Lymphoïde Chronique et plus spécialement la molécule CD5 n'a plus de secrets, merci de m'avoir fait l'honneur de faire partie de ce jury.

Même si nous n'avons pas pu nous rencontrer souvent, je vous remercie pour votre disponibilité et vos précieux conseils sur ce travail. J'espère qu'il sera à la hauteur de vos attentes.

A Monsieur le Professeur Laurent Mauvieux, Juge

Professeur d'Hématologie Biologique

Pour avoir accepté de juger ce travail nécessitant de vous déplacer jusqu'à Nancy. Merci d'apporter votre expérience strasbourgeoise à ce travail.

En espérant que cette thèse permettra une belle collaboration entre nos deux laboratoires.

Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma profonde gratitude.

A Monsieur le Docteur Jean-François Lesesve, Directeur de Thèse et Juge

Docteur en Hématologie Biologique

Pour m'avoir confié ce travail et m'avoir fait confiance pour le mener à bout. Merci pour votre patience, vos réponses rapides à mes questions, vos relectures attentives et votre grande expérience. J'ai beaucoup appris à vos côtés notamment pour la rédaction de ce travail qui fut difficile au début.

Veuillez trouver ici le témoignage de ma grande admiration et de ma sincère reconnaissance.

A MA FAMILLE

A *ma Finou*, ma moitié, qui a été à mes côtés pendant presque 30 ans, un peu moins ces dernières années de par la distance qui nous sépare ce qui m'attriste, merci de m'apporter tout ce qui me manque. Sache que je suis fière de ce que tu es devenue, Maître. Je t'aime.

A *Jonathan*, l'amour de ma vie, qui a supporté mes sauts d'humeur ces derniers mois et a partagé mes joies, mes doutes et mes peines. Merci d'être à mes côtés au quotidien et de m'épauler comme tu le fais. Je t'aime.

A *mes parents*, qui ont de loin comme de près contribué à ce que je suis maintenant, un seul mot merci d'avoir cru en moi. Je vous aime.

A *mon papy*, qui s'est toujours intéressé à ce que je faisais, je suis très fière aujourd'hui de te montrer l'aboutissement de ces longues années d'études.

A mes *autres grands-parents*, disparus trop vite.

A L'EQUIPE DE MEDECINE A du CHU de NANCY

Aux médecins :

A Dana, Caroline, Serge, Agnès, Cyrille qui m'ont fait découvrir l'hématologie et m'ont confortée dans mon choix de devenir "comme eux".

A Oana ma co-interne pendant 6 mois, qui est devenue une "grande" très vite.

A Aurore pour son professionnalisme et ses connaissances, à bientôt pour poursuivre notre collaboration professionnelle mais aussi amicale.

A *l'équipe paramédicale du secteur, du secteur II*, *du "prot", de l'HDJ* : merci pour votre expérience qui m'a bien servi lors de mon premier semestre et votre bonne humeur.

A *Laurence Clément* et *Alexandra Salmon* qui m'ont fait découvrir leur travail de " greffeuse "

A L'EQUIPE DE MEDECINE A DU CHR DE METZ BONSECOURS

Aux médecins :

Dr Christian, V. Dorvaux, I. Guibaud, S. Visanica de m'avoir fait partager leur expérience messine, j'ai beaucoup appris et je garderai un excellent souvenir de mon stage.

A l'équipe paramédicale : merci pour votre accueil et votre gentillesse.

A MES AMIS

A mes co-internes hématologues : *Steph, Godelieve, Jessica, Gabrielle* qui ont rendu mes semestres d'hématologie encore plus mémorables

A tous mes co-internes non hématologues : *Marie-Pierre, Anne So, Claire, Delphine, Alice, JB, Jérémie, Thomas* avec qui j'ai partagé quelques mois de ma vie d'interne

A mes « oisillons » du semestre dernier : *Juju, Momo, Caro*, vous allez devenir des grands médecins, c'est certain !

A tous mes amis médecins et non médecins

A *Cédric Baumann* pour son travail statistique

Aux laboratoires *Pfizer, Roche* pour leur soutien

Enfin à tous les patients qui ont croisé ma route d'interne, merci pour votre courage, c'est une belle leçon de vie.

SERMENT

"Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque".

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS 9
SERMENT 15
TABLE DES MATIERES 16
ABREVIATIONS 23
TABLE DES ILLUSTRATIONS 26
PREMIERE PARTIE : LA LEUCEMIE LYMPHOIDE CHRONIQUE 29
Introduction 30
Généralités 31
I. Historique 31
II. Définition 32
III. Epidémiologie 32
IV. Etiologies 34
V. Pronostic 35
VI. Diagnostic 36
A. Hémogramme 36
B. Immunophénotypage 38
C. Score de Matutes 38
VII. Clinique 40
A. Circonstance de découverte 40
B. Le syndrome tumoral 41
1. Les adénopathies 41
2. La splénomégalie 41
3. L'hépatomégalie 41
4. Autres formes 42
C. Classification 42
VIII. Complications 44

A. Complications non infectieuses 44
1. Syndrome de Richter 44
2. Cytopénies 45
B. Complications infectieuses 48
1. Mécanismes 48
a. Une hypogammaglobulinémie 49
b. Un déficit immunitaire cellulaire 49
c. La neutropénie et le défaut en cellules phagocytaires 49
d. Activité du complément 49
e. La splénectomie et l'asplénie fonctionnelle 50
2. Germes incriminés 50
3. Facteurs de risque 50
4. Traitement spécifique 51
a. Perfusions d'immunoglobulines 51
b. La vaccination 51
c. Traitement prophylactique 52
IX. Cancers secondaires 52
X. Pronostic 53
A. Classifications pronostiques cliniques 53
1. La classification de Binet 54
2. La classification de RAI 54
3. Groupe de patients en stade A à risque 55
4. Conclusions 56
B. Facteurs pronostiques biologiques 56
1. Le temps de doublement des lymphocytes (TDL) 58
2. La β_2 microglobuline 59
3. La thymidine kinase (TK) et le CD 23 soluble 60
a. La thymidine kinase 60

b. Le CD23 60
C. Nouveaux outils pronostiques 61
1. Mutation des IgVH 61
2. ZAP-70 (zeta-associated protein 70) 64
3. Expression de CD38 66
4. Les anomalies cytogénétiques 67
a. Délétion 13q14 68
b. Trisomie 12 70
c. Délétion 11q22-23 70
d. Délétion 17p13 71
e. Délétion 6 q 74
f. Synthèse 74
5. Autres facteurs pronostiques 75
D. Conclusion 76
XI. Diagnostics différentiels 76
A. Les LLC "atypiques" 77
B. La phase leucémique des lymphomes B à petites cellules 77
1. Le lymphome folliculaire 78
2. Le lymphome de la zone du manteau 78
3. Le lymphome lympho-plasmocytaire et la maladie de Waldenström 78
4. Le lymphome de la zone marginale 79
XII. Principes de traitement de la LLC 79
A. Moyens thérapeutiques actuels 80
1. Corticoïdes 80
2. Alkylants 81
a. Le Chlorambucil (CLB) 81
b. Le Cyclophosphamide 82
c. La bendamustine 82

3. Analogues des purines 83
a. La fludarabine (FDR) 83
b. Le LMP-420 84
4. Association de chimiothérapie 84
5. Immunothérapies 85
a. L'alemtuzumab 85
b. Le rituximab 86
c. L'ofatumumab 87
d. Le GA101 87
6. Intensification thérapeutique 88
a. L'autogreffe 88
b L'allogreffe 89
B. Nouveaux outils thérapeutiques 91
1. Les molécules pro-apoptotiques 91
2. Les molécules antiangiogéniques 91
3. Thérapie par des Lymphocytes T génétiquement modifiés 92
4. Le Flavopiridol 93
5. La vitamine D 93
C. Notion de MRD 93
Conclusion 94
DEUXIEME PARTIE : ROLE DE LA MOLECULE CD5 DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DE LA LLC 96
Origines de la LLC 97
I. Introduction 97
II. Maladie unique ou maladies distinctes ? 98
A. Rappels sur les évènements survenant au cours de la lymphogénèse B 98
B. Quelques points sur le BCR 99
C. Conséquences 102
D. Hypothèses physiopathologiques 103

III. Défaut d'apoptose 105
A. Molécules impliquées 106
1. Bcl-2 106
2. Mcl-1 (myeloid cell leukemia-1) 107
B. Rôle des micro-ARNs 108
IV. Régulation du cycle cellulaire 108
V. Prolifération 108
VI. Rôle du microenvironnement 109
A Rôle des cellules stromales 109
B Rôle des facteurs solubles 110
VIII. Conclusion 110
La molécule CD5 111
I. Introduction 111
II. Histoire de sa découverte 111
III. Structure de la molécule 112
IV. Situation 115
V. Ligands de CD5 115
VI. Distribution tissulaire des LB $CD5^+$ 116
VII. La molécule CD5 dans les pathologies auto-immunes 117
VIII. Rôle de la molécule CD5 dans la transduction du signal via le BCR 118
La molécule CD5 dans la LLC 120
I. Mécanismes en cause dans le défaut d'apoptose au cours la LLC 120
II. CD5 et niveau de résistance à l'apoptose dans la LLC 122
Conclusion 123
TROISIEME PARTIE : ANALYSE DES DONNEES 125
Introduction 125
Analyse de l'étude 125
I. Patients, matériels, méthodes 125

A. Description générale de l'étude 125
B. Patients et prélèvements 126
1. Patients inclus 126
2. Prélèvements pour l'immunophénotypage lymphocytaire 127
a. Types de prélèvements 127
b. Transport, stockage et contrôle des prélèvements 127
C. Matériels 127
1. Appareils 127
2. Matériels pour l'immunophénotypage 128
3. Réactifs pour l'immunophénotypage 128
D. Méthodes 130
1. Immunophénotypage lymphocytaire 130
a. Principe 130
b. Immunomarquage 130
c. Analyse cytométrique 131
E. Expression des résultats 131
II. Critères étudiés 132
A. Population 132
B. Marqueurs 132
C. Stades de Binet 133
D. Cytogénétique 133
E. Statut mutationnel des IgVH 133
III. Tests statistiques utilisés 134
Résultats 134
I. Population étudiée 134
II. Stade Binet 135
III. Résultats concernant la molécule CD5 en fonction des différents paramètres diagnostiques et pronostiques 136

IV. Statut mutationnel des IgVH 138

Discussion 149

CONCLUSION GENERALE 154

BIBLIOGRAPHIE 156

ABREVIATIONS

AA : Acide Aminé

Acm : Anticorps monoclonal

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AHAI : Anémie Hémolytique Auto-Immune

AID : association

Ag : Antigène

ATM : Ataxie Télangiectasie Mutated

BCR : B Cell Receptor (Récepteur à l'antigène des lymphocytes B)

CC : Caryotype Conventionnel

CD : Cluster de Différenciation

CDK : Cyclin-dependent Kinase

CHUN : Centre Hospitalier Universitaire de Nancy

CKI : Cyclin-dependent Kinase Inhibitor

CMF : Cytométrie en Flux

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CMV : Cytomégalovirus

CSP : Cellules Souches Périphériques

DAPK1 : Death-associated protein kinase 1

DLI : Donor lymphocyte infusion

EBV : Epstein Barr virus

EDTA : Ethylenediaminetetraacetic acid (acide éthylène diamine tétraacétique)

FISH : Fluorescence In Situ Hybridization (Hybridation in situ en fluorescence)

FR : Facteur Rhumatoïde

IF : ImmunoFluorescence

IMF : Intensité moyenne de fluorescence

IgS : Immunoglobuline de Surface

IL : Interleukine

ITAM : Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif

ITIM : Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif

IWCLL : Internationnal Workshop of Chronic Lymphocytic Leukemia

LDH : Lactates Déshydrogénases

LB : Lymphocytes B

LLC : Leucémie Lymphoïde Chronique

LMNH : Lymphome Malin Non Hodgkinien

LT : Lymphocytes T

MBL : Monoclonal B-cell Lymphocytosis (Lymphocytose B monoclonale)

MFI : Mean Fluorescence Intensity

MGG : May Grünewald Giemsa

MGUS : Monoclonal gammapathy of undetermined significance

MRD : Minimal Residual Disease (Maladie résiduelle minimale)

NCI-WG : National Cancer Institute-sponsored-Working Group

OR : Odd Ratio (Risque Relatif)

OS : Overall Survival (Survie globale)

PFS : Progression Free Survival (Survie sans progression)

PRCA : Pur Red Cell Aplasia (Erythroblastopénie)

PTI : Purpura Thrombobénique Idiopathique

PTK : PhosphoTyrosine Kinase

RIC : Reduced Intensity Conditionning (conditionnement non myéloablatif ou d'intensité réduite)

SH2 : Src Homology domain-2

SHP-1 : SH-2-domain-containing-protein-tyrosine-phosphatase-1

SLP : Syndrome Lympho-prolifératif

SRCR : Scavenger Receptor Cystein-Rich

TBI : Total body irradiation

TCR : T-Cell Receptor (Récepteur à l'antigène des lymphocytes T)

TK : Thymidine Kinase

TNF-α : Tumor Necrosis Factor α

TPO : Thrombopoietin (Thrombopoïétine)

TRM : Transplant-related Mortality (mortalité liée à la greffe)

VEGF : Vascular Endothelium Growth Factor

VZV : Virus Zona Varicelle

ZAP-70 : Zeta-chain-Associated Protein kinase 70

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLEAUX

Tableau 1. Nombre de cas et de décès en 2010 en France par classe d'âge chez l'homme et chez la femme imputables à la LLC (disponible sur www.invs.sante.fr) 33

Tableau 2 Relation entre hémopathies et exposition à des produits chimiques (5) 34

Tableau 3. Score immunophénotypique de E. Matutes (16) pour caractériser la LLC..... 39

Tableau 4. Classification OMS des lymphomes (2008) 43

Tableau 5. Facteurs pronostiques corrélés aux manifestations auto-immunes dans la LLC (31) 46

Tableau 6. Facteurs de risque associés aux complications infectieuses de la LLC (35)..... 48

Tableau 7. Classification de Binet selon (50)..... 54

Tableau 8. Classification de Rai selon (49) 55

Tableau 9. Facteurs pronostiques dans la LLC (53) 57

Tableau 10. Anomalies cytogénétiques récurrentes observées au cours de la LLC (83). 68

Tableau 11. Critères de mise en route du traitement selon le NCI-WG. Au moins un des critères doit être présent (si présence de signes généraux, un des signes doit être présent à savoir : perte de poids ou asthénie ou fièvre ou sueurs)..... 80

Tableau 12. Les différents ligands de CD5 d'après [Youinou 1999]..... 115

Tableau 13 Panel d'anticorps monoclonaux utilisés. 129

Tableau 14. Relation entre les marqueurs étudiés et le stade de Binet 147

Tableau 15. Relation entre l'expression de CD5 et les autres marqueurs étudiés 148

FIGURES

Figure 1. Incidence des hémopathies lymphoïdes par ethnie de 1992-2001 (3)..... 33

Figure 2. Frottis sanguin représentant une LLC avec présence de nombreux lymphocytes d'aspect mature avec rapport nucléo-cytoplasmique élevé associés à des ombres de Gumprecht 37

Figure 3. Survie des patients atteints de LLC en stade C (secondaire à une cytopénie auto-immune versus secondaire à infiltration médullaire) (32) 47

Figure 4. Arbre décisionnel permettant d'objectiver chez des patients en stade A un groupe à risque élevé d'un groupe à faible risque en fonction de facteurs de risque (52) 56

Figure 5. Représentation de la PFS en fonction du TDL (> ou < à un an) (54) 59

Figure 6. Représentation de la PFS chez des patients en stade A selon un taux de TK différent (59) .. 60

Figure 7. Représentation de la PFS chez des patients en stade A selon le taux de CD23 soluble (60) . 61

Figure 8. Représentation de la survie globale selon le statut mutationnel des Ig avec une médiane de survie estimée à 293 mois pour les formes mutées vs 117 mois pour les formes non mutées (p=0,001) (63) 63

Figure 9. Représentation de la survie globale entre des LLC avec statut muté/non muté et avec la mutation du gène VH3-21. Il existe une différence significative en terme de survie entre les statuts muté/non muté (p<0,001) et entre mutés et les mutés VH3-21 (p=0,018) (65). 63

Figure 10. Facteurs ayant un rôle dans la signalisation par le BCR d'après (73) 65

Figure 11. Caryotype conventionnel présentant une perte d'une partie du bras court du chromosome acrocentrique 13 69

Figure 12. Représentation par FISH avec sonde tel 13qV du noyau C présentant une del(13q) (3 signaux) et du noyau D sans del(13q) (4 signaux) 69

Figure 13. Caryotype conventionnel présentant une trisomie 12 70

Figure 14 Intervalle de temps sans traitement pour les patients avec del(11q) vs sans del(11q) [Döhner 1997] 71

Figure 15. Représentation en FISH de la del(11q) avec sonde ATM marquée en rouge 71

Figure 16. Représentation de la survie après le début d'un traitement par analogue des purines chez des patients avec délétion de p53 vs ceux sans délétion (p<0,001)(87) 73

Figure 17. Carytoype conventionnel avec del(17p) 73

Figure 18. Représentation par FISH de la délétion p53 74

Figure 19. Représentation de la survie selon les anomalies génétiques retrouvées dans la LLC (82) .. 75

Figure 20. Schéma de l'incidence des nouveaux facteurs pronostiques (96) 76

Figure 21. Représentation de la survie globale entre les patients ne recevant pas de traitement et ceux recevant chlorambucil et prednisone. Pas de différence significative (p=0,74) (102) 82

Figure 22. Représentation de la PFS entre des patients traités par fludarabine seule versus association fludarabine/cyclophosphamide (p=0,001) (109) 84

Figure 23. Effet du lénalidomide (len) *in vivo* sur la cellule de LLC (140) 92

Figure 24. Etapes de la différenciation du lymphocyte B [Küppers Nature cancer review] 99

Figure 25. Représentation schématique du BCR 100

Figure 26. Schéma simplifié des deux voies apoptotiques [Pakham 2005] 106

Figure 27. Représentation schématique des protéines de la famille Bcl-2 [Osorio 1998] 107

Figure 28. Représentation schématique de la structure de la molécule CD5. Les flèches indiquent les sites possibles de fixation des molécules responsables de la transduction du signal [Mc Alister] 114

Figure 29 Représentation schématique du chromosome 11 avec localisation du gène CD5 en rouge (disponible sur www.genecards.org) 115

Figure 30. Signaux intervenant dans l'activation positive ou négative du BCR [Xu 2005] 119

Figure 31. Schéma des événements impliqués dans l'origine de l'accumulation des cellules B de LLC d'après [Caligaris-Cappio 1999] 121

Figure 32. Représentation de la répartition par sexe de notre cohorte 139

Figure 33. Représentation de la répartition par âge au diagnostic..... 139

Figure 34. Représentation de la répartition de la lymphocytose (G/L) au diagnostic 140

Figure 35. Représentation de la répartition du stade de Binet au diagnostic 140

Figure 36. Représentation de la répartition de l'expression de CD5 (en %) dans notre cohorte 141

Figure 37. Représentation de la répartition de l'expression de CD5 (IMF) dans notre cohorte 141

Figure 38. Représentation de la répartition de l'expression de CD5 (IMF) chez les patients en stade A de Binet 142

Figure 39. Représentation de la répartition de l'expression de CD5 (IMF) chez les patients en stade B de Binet 142

Figure 40. Représentation de la répartition de l'expression de CD5 (IMF) chez les patients en stade C de Binet 143

Figure 41. Représentation en boîtes à moustache des différentes valeurs (moyenne, quartiles 1 et 3, médiane, maximum et minimum) en IMF de CD5 en fonction du stade de Binet 143

Figure 42. Représentation de la relation statistique entre l'expression de CD5 (IMF) et la lymphocytose (G/L) (p=0,0430)..... 144

Figure 43. Représentation de la relation statistique entre l'expression de CD5 (IMF) et l'expression de CD23 (IMF) (p<0,0001) 144

Figure 44. Représentation de la relation statistique de l'expression de CD5 (IMF) et l'expression de CD38 (IMF) (p=0,0016) 145

Figure 45. Représentation de la relation statistique entre l'expression de CD5 (IMF) et l'expression de CD43 (IMF) (p<0,0001) 145

Figure 46. Représentation de la répartition des statuts mutés et non muté par stade de Binet 146

Figure 47. Représentation en boîtes à moustache de l'expression de CD5 (IMF) en fonction du statut mutationnel (M=muté et UM=non muté) (p=0,08) 146

PREMIERE PARTIE :

LA LEUCEMIE LYMPHOIDE CHRONIQUE

Introduction

La Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC) est l'hémopathie lymphoïde maligne chronique la plus fréquente de l'homme de plus de 50 ans ; elle correspond à une accumulation-prolifération lente et progressive dans le sang, la moelle et certains organes lymphoïdes de petits lymphocytes B (LB) "matures " bloqués en phase G0 du cycle cellulaire de nature monoclonale et de phénotype caractéristique. Le diagnostic repose sur l'analyse cytologique et immunophénotypique des éléments lymphoïdes circulants. L'analyse immunophénotypique est essentielle au diagnostic, elle est réalisée par cytométrie en flux (CMF). Les cellules B de la LLC présentent un immunophénotype caractéristique qui associe l'expression de la molécule CD19 à plusieurs marqueurs pan-B (CD20, CD22, CD23, CD24, CD79a) ainsi qu'une faible expression des Ig de surface (IgS) avec expression d'une seule chaîne légère (kappa ou lambda) ce qui prouve la monotypie de ces cellules. De plus les cellules B co-expriment le CD5, marqueur des cellules T, exprimé également sur une fraction de lymphocytes B normaux. Enfin, le CD79b est très faiblement exprimé et l'épitope de CD20 reconnu par l'anticorps FMC7 est en général négatif. Ces caractéristiques immunophénotypiques permettent d'établir un score diagnostique établi par E. Matutes en 1994 qui porte son nom et qui permet de différencier une LLC "classique" d'autres syndromes lymphoprolifératifs B (SLP) en fonction du score obtenu. La LLC est caractérisée par une évolution clinique et biologique très hétérogène, certains patients ayant une maladie totalement indolente durant une dizaine d'années et ne nécessitant pas de traitement immédiat et d'autres qui vont évoluer très rapidement vers des formes agressives avec une survie après diagnostic inférieure à 2-3 ans. Il existe donc un pronostic individuel extrêmement variable qu'il est utile d'évaluer pour pouvoir surveiller et traiter les patients de manière adéquate en fonction de leur stade clinique et du pronostic de leur maladie. Il existe de nombreux facteurs pronostiques cliniques et biologiques décrits depuis les années 1980, notamment les classifications clinico-biologiques de Binet et Rai qui sont aujourd'hui toujours utilisées, le Temps de Doublement des Lymphocytes (TDL), la β_2 microglobuline, le taux de CD23 soluble, le taux sérique de tymidine kinase (TK) ainsi que certaines anomalies cytogénétiques (p53, ATM). Depuis quelques années de nouveaux

marqueurs pronostiques comme l'expression de CD38, le statut mutationnel des gènes VH des Ig, l'expression de ZAP-70 sont évalués.

Le travail que nous présentons ici a pour objctif d'évaluer l'apport d'un autre élément qui pourrait jouer un rôle important dans le pronostic de la LLC et dans son évolution dans le temps, il s'agit du CD5 et notamment de son expression en immunofluorescence (IF). Les généralités de ce travail sont séparées en plusieurs grandes parties. En premier nous discuterons de la LLC notamment de ses aspects épidémiologiques, cliniques, biologiques, thérapeutiques puis nous analyserons les différents outils pronostiques mis à la disposition du clinicien, enfin nous aborderons le CD5, son origine, sa fonction, son impact dans le score pronostique de la LLC avec description de notre étude rétrospective univariée.

Généralités

I. Historique

Les premières recherches sur les leucémies datent du XIXème siècle. Plusieurs noms peuvent être cités (1). Dès 1845 un écossais du nom de Bennet publie deux histoires de patients présentant une splénomégalie et des adénopathies multiples avec description de "pus" dans leur sang. Le nom de "leucémie" est donné la première fois par Virchow quelques temps après pour des tableaux cliniques identiques. Cependant le professeur Alfred Donné avait décrit antérieurement en 1835 un cas "où les globules blancs sont aussi nombreux que les globules rouges". La leucémie lymphoïde a ensuite été individualisée la première fois vers 1878 par Paul Ehrlich grâce à l'utilisation de radicaux acides, basiques et neutres qui a permis de différencier chaque type de globules blancs et ainsi faire la distinction entre leucémie myéloïde et lymphoïde (2). Elle était appelée autrefois "lymphadénose chronique", "lymphomatose" ou "lymphose". Il faut attendre les années 1970 avec une publication de K. Rai pour permettre la distinction entre formes paisibles et agressives. Les progrès ont ensuite été rapides tant en terme de diagnostic, pronostic que de traitement.

II. Définition

La LLC est une hémopathie lymphoïde chronique définie par l'accumulation lente et progressive dans le sang, la moelle osseuse et certains organes comme le foie, la rate et les ganglions de petits lymphocytes B d'aspect mature et d'origine monoclonale, qui présentent un phénotype caractéristique. Elle correspond à 11% environ de l'ensemble des hémopathies malignes dans le monde (3) dont presque 30% des leucémies de l'adulte dans les pays occidentaux alors qu'elle est 10 fois moins présente en Extrême-Orient.

III. Epidémiologie

La LLC reste une pathologie du sujet de plus de 40 ans. L'âge moyen au diagnostic est de 70 ans chez les hommes et de 72 ans chez les femmes, moins de 15% des patients ont moins de 55 ans et moins de 3% ont moins de 45 ans au diagnostic. Deux tiers des patients sont des sujets masculins. C'est la leucémie la plus fréquente chez l'adulte dans les pays occidentaux (environ 30% des leucémies). En France près de 3300 cas incidents de LLC sont estimés en 2010. L'incidence est de 4/100 000 habitants par an en France, elle est légèrement inférieure chez les individus de race noire et nettement inférieure chez les patients d'origine asiatique (0.48/100000 habitants) ce qui laisse suggérer des variations raciales et ethniques. La survie relative à 5 ans, tous stades confondus, est supérieure à 80%. Un peu plus de 1000 décès annuels sont imputables à la LLC en France (tableau 1).

	Nombre de cas				
	Incidence			Mortalité	
Classe d'âge	Homme	Femme		Homme	Femme
[00;14]	0	0		0	0
[15;49]	61	40		4	2
[50;64]	569	271		65	25
[65;74]	600	307		121	57
[75;84]	587	403		245	168
[85;++]	227	212		168	211
Total	2044	1233		603	463

Tableau 1. Nombre de cas et de décès en 2010 en France par classe d'âge chez l'homme et chez la femme imputables à la LLC (disponible sur www.invs.sante.fr)

Des facteurs génétiques semblent jouer un rôle dans la pathogénie de la maladie. Effectivement, l'incidence varie en fonction des pays avec 2,5% des leucémies de l'adulte au Japon et jusqu'à 38% au Danemark. Cette faible incidence dans la population d'origine japonaise se retrouve également chez les japonais ayant migré à Hawaii et ayant adopté le mode de vie américain.

Une étude récente de SJ Wu *et al.* (4) sur l'incidence de la LLC à Taïwan montrait l'existence de variations géographiques entre l'Est et l'Ouest avec accroissement de l'incidence à Taïwan depuis quelques années pour les hommes, mais également pour les femmes, avec toutes les tranches d'âge touchées comparativement aux américains de type caucasien où l'incidence de la LLC reste stable. Cette étude est intéressante car elle montre l'impact de facteurs environnementaux et certainement une modification du style de vie des Taïwanais notamment la nourriture plus riche en calories, les agents chimiques tels les pesticides et les herbicides.

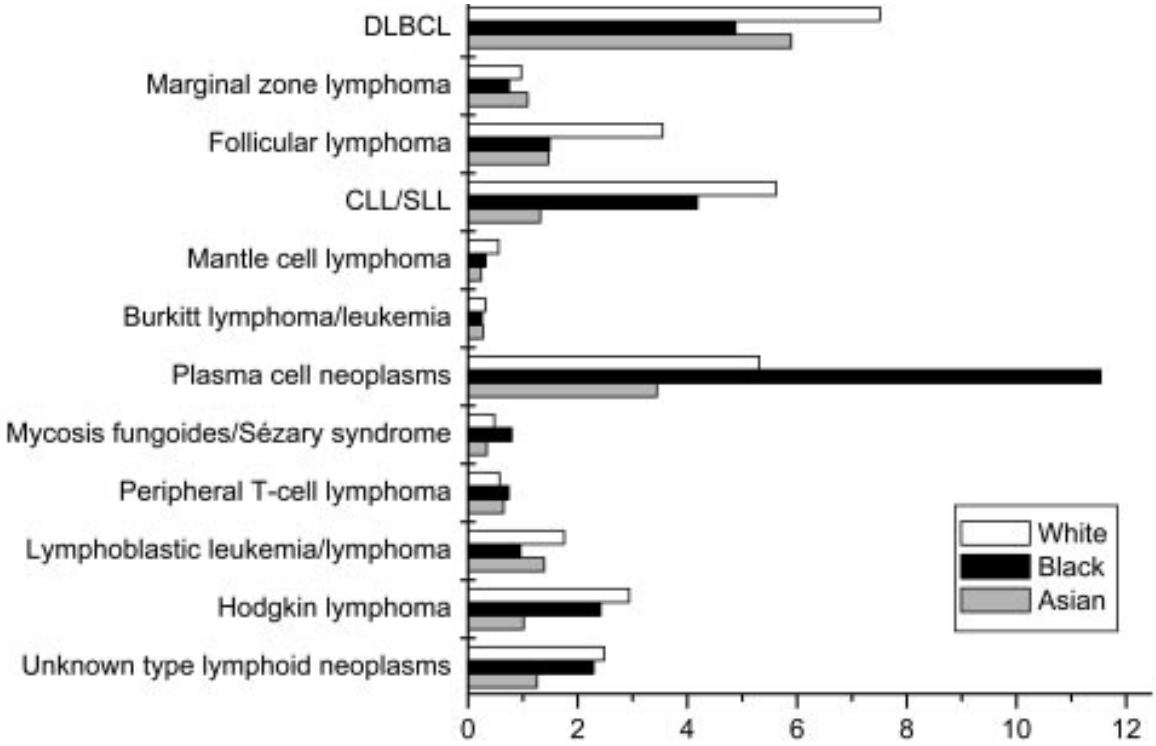


Figure 1. Incidence des hémopathies lymphoïdes par ethnie de 1992-2001 **(3)**

IV. Etiologies

Contrairement aux leucémies aiguës où il a été prouvé que l'exposition au benzène, pesticides, radiations ionisantes et traitement chimiothérapique antérieure sont des facteurs de risque au développement de la maladie, plusieurs études réalisées sur des populations d'agriculteurs ayant dévéloppé une LLC avaient des résultats inconstants. Il existe néanmoins un article de A. Blair en 2007 reprenant différentes études ayant montré un risque relatif élevé entre LLC et des expositions chimiques (5). Ainsi il semble y avoir une relation entre l'exposition à des produits chimiques et le développement d'une LLC (tableau 2). Mais cela reste à confirmer par d'autres études. Le lien exact entre l'exposition aux toxiques et l'augmentation du risque de LLC n'est pas clairement défini mais il semblerait qu'une dysrégulation du système immunitaire soit fortement en cause. En effet, la LLC induit des désordres immunitaires dont les infections virales en rapport avec un déficit fonctionnel T, un défaut de coopération entre LB et LT, une hypogammaglobulinémie ainsi que des manifestations auto-immunes. Les auto-anticorps en cause sont souvent produits par le clone tumoral ce qui prouve la dysrégulation du système immunitaire.

	Evidence in humans		
Chemical	CLL	NHL/MM	Haematoxicity in animals
Pesticides	Yes	Yes	Yes
Solvents	Yes	Yes	Yes
Benzene	One study	Yes	Yes
Butadiene	Yes	Yes	Yes
Formaldehyde	No	No	Yes
Dioxins	No	Yes	Yes
Ethylene oxide	No	Yes	Yes

NHL, non-Hodgkin lymphoma; MM, multiple myeloma; CLL, chronic lymphocytic leukaemia.

Tableau 2 Relation entre hémopathies et exposition à des produits chimiques **(5)**

Concernant la susceptibilité familiale, des études épidémiologiques ont montré que le risque de LLC est accru de deux à sept fois pour la famille au premier degré avec phénomène d'anticipation (apparition de plus en plus tôt dans la maladie au cours des générations). Une

équipe australienne a montré l'existence possible d'une susceptibilité génétique avec présence d'une agrégation familiale au sein de la LLC contrairement aux autres syndromes lymphoprolifératifs (6). Les formes familiales représentent 5% des patients (7). Il ne semble pas y avoir de différence entre forme familiale et forme sporadique avec néanmoins dans les formes familiales des patients habituellement plus jeunes, des femmes plus volontiers, la présence d'un profil plus fréquemment muté. Comparativement aux contrôles, les apparentés du premier degré des patients avec une LLC ont un risque relatif (RR) de développer une LLC de 8,5, un lymphome malin non hodgkinien de 1,9, un lymphome lymphoplasmocytaire de 4. Cette augmentation de risque peut être expliquée par des facteurs environnementaux (il existe des variations géographiques importantes avec une incidence de la LLC élevée aux Etats-Unis et en Europe comparée à un taux beaucoup plus bas chez les asiatiques comme indiqué précédemment). Or, le risque ne semble pas être plus important chez les migrants asiatiques aux Etats-Unis ce qui laisse suggérer un rôle prédominant de la génétique. Il a été montré dans une étude de Raval en 2007 un déficit épigénétique d'expression de la DAPK1 (death-associated protein kinase 1) chez sept personnes d'une même famille qui pourrait expliquer en partie le mécanisme de prédisposition à la LLC (8).

Il existe aussi un risque accru de lymphocytose B monoclonale (MBL) parmi les apparentés du premier degré (13,5%) comparativement à la population générale (3,5%). La susceptibilité génétique de la LLC a été décrite dans une étude de Di Bernardo en 2008 ayant identifié des variations sur six locis ce qui augmenterait le risque de LLC de façon significative (9).

V. Pronostic

La survie médiane globale des patients atteints de LLC est comprise entre 2 et 15 ans mais variable d'un patient à l'autre en fonction du stade de la maladie et de son comportement agressif ainsi que de la qualité de la réponse aux traitements. Avant les années 1980, les traitements par chlorambucil ou cyclophosphamide en monothérapie permettaient d'obtenir une rémission complète dans seulement 2% des cas avec au long terme un risque accru de développer une leucémie aiguë ou un syndrome myélodysplasique. A partir de 1980 est apparue la fludarabine qui a permis une amélioration du taux de réponse globale

(OR) et de la survie sans progression (PFS) mais pas de la survie globale (OS). L'année 1997 est marquée par l'introduction de l'immunothérapie avec l'utilisation de l'anticorps monoclonal anti CD20 qui, associé à une polychimiothérapie a bouleversé le pronostic de la maladie. L'association du rituximab à la fludarabine et au cyclophosphamide est devenue le gold standard dans le traitement de la LLC (10). Néanmoins la LLC est considérée comme une hémopathie restant actuellement incurable. La survie relative globale est de 73% à 5 ans mais reste très hétérogène. Après 75 ans la survie est nettement moins bonne probablement en rapport avec l'âge et une prise en charge thérapeutique moins agressive. Elle reste néanmoins de meilleur pronostic chez la femme. Quelques rares cas de rémissions spontanées ont été observés à titre exceptionnel (11).

VI. Diagnostic

A. Hémogramme

Le diagnostic de la LLC est basé sur les nouveaux critères définis par l'IWCLL (Internationnal Workshop on Chronic Lymphocytic Leukaemia) (12) avec :

- présence de lymphocytes monomorphes de petite taille, matures avec une chromatine dense, parfois mottée, un cytoplasme de surface restreinte,
- moins de 55% de prolymphocytes/ formes atypiques,
- présence d'au moins 5 G/L en valeur absolue de lymphocytes B clonaux (CD19+, CD20+, CD23+) dans le sang depuis plus de 3 mois,
- présence d'une faible densité des IgS (avec chaînes légère kappa ou lamda),
- positivité du CD5

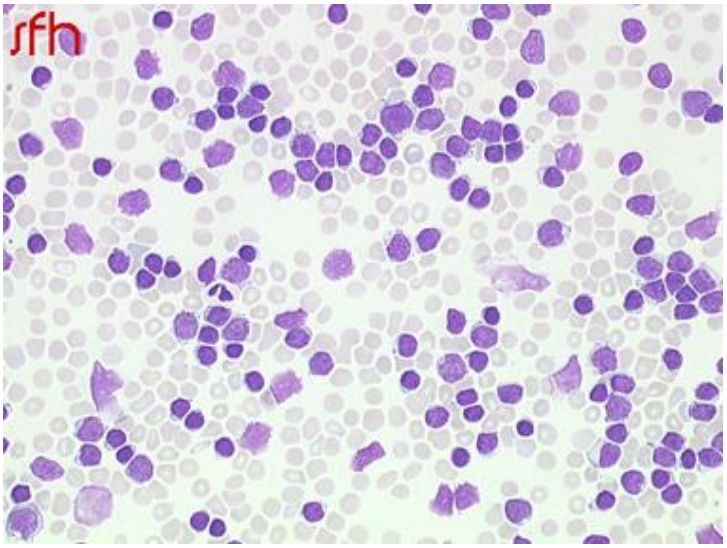


Figure 2. Frottis sanguin représentant une LLC avec présence de nombreux lymphocytes d'aspect mature avec rapport nucléo-cytoplasmique élevé associés à des ombres de Gumprecht

On retrouve de plus des ombres nucléaires de "Gümprecht" ou "smudge cells" qui sont assez caractéristiques de la LLC. Elles ont été décrites pour la première fois par Gümprecht en 1896 et correspondent à des cellules lymphoïdes lysées avec membrane nucléaire interrompue et cytoplasme non intact. Ces cellules ne sont pas liées à un artefact de préparation des lames. La formation de ces "smudge cells" est inversement corrélée à l'expression de vimentine, une protéine du cytosquelette essentielle pour la rigidité et l'intégrité du lymphocyte. Il a été prouvé que les patients qui présentaient un pourcentage élevé de "smudge cells" avaient un temps prolongé entre le diagnostic et le premier traitement. De plus le pourcentage est significativement plus bas pour les patients avec une expression de CD38 et ZAP-70 élevée et avec un profil non muté (13). Un autre article américain a prouvé qu'un taux de "smudge cells" inférieur à 30% est associé à une réduction de la survie avec une survie à 10 ans pour 50% versus 80% chez les patients avec respectivement un pourcentage de "smudge cells" inférieur ou supérieur à 30%. De plus les patients avec une délétion 13q isolée ont un pourcentage de "smudge cells" supérieur par rapport à ceux à caryotype normal (14).

Il semble exister une relation entre la présence de ces ombres et le stade de la maladie avec diminution progressive des ombres de Gümprecht entre le stade A et le stade C de Binet.

La lymphocytose B monoclonale (ou MBL) est une entité récente définie par :

- une population B clonale (restriction des chaînes légères)
- un phénotype spécifique de LLC
- un nombre absolu de lymphocytes B < 5G/L

Sa prévalence est de 3 à 5% chez les sujets sains de plus de 50 ans et de 10 à 15% chez les apparentés collatéraux des patients atteints de LLC. Il existe un risque de progression en LLC de 1,1% par an. Pour certains auteurs, la MBL précèderait dans tous les cas le diagnostic de LLC (15). Comme la gammapathie monoclonale de signification indéterminé (MGUS) pour le myélome, la MBL serait la phase précoce de la LLC mais cela reste encore à prouver. L'observation clinique et l'analyse biologique des MBL pourraient contribuer à la compréhension des mécanismes physiopathologiques de la LLC.

B. Immunophénotypage

L'immunophénotypage est réalisé à partir de lymphocytes sanguins par technique de cytométrie en flux (CMF). Les cellules expriment l'antigène CD5 et les antigènes de surface des cellules B à savoir CD19, CD20 et CD23. Typiquement, l'expression des Ig de surface, CD79b et CD20 est généralement faible contrairement à ce que l'on trouve sur les cellules B normales, FMC7 est négatif ou très faiblement exprimé, il existe une expression faible d'une immunoglobuline membranaire monotypique de type lambda ou kappa.

C. Score de Matutes

C'est l'équipe de Matutes (*Royal Mardsen Hospital* - Londres) qui a proposé en 1994 un système de score immunophénotypique basé sur 5 marqueurs : Ig membranaire, CD5, CD23, FMC7, CD22 (ou CD79b qui correspond au score de Moreau) (16, 17). Le score varie de 0 à 5, un score élevé (≥ 4) est en faveur d'une LLC. Un score plus faible oriente vers un autre syndrome lymphoprolifératif (tableau 3).

Cotation	1	0
CD5	+	-
CD23	+	-
Expression sIg monotypique	Faible	Forte
FMC7	-	+
Expression de CD79b/CD22	Faible	Forte

Tableau 3. Score immunophénotypique de E. Matutes **(16)** pour caractériser la LLC

Nous allons revoir chacun des antigènes qui constituent le score de Matutes :

CD23 est une glycoprotéine membranaire de type II appartenant à la famille des lectines C identique au récepteur de faible affinité pour IgE (Fc ε RII), isotype impliqué dans les phénomènes allergiques et la défense contre les parasites. Il est situé sur les lymphocytes B activés et les monocytes, les plaquettes et les polynucléaires éosinophiles. Cet antigène est capté par l'anticorps IgE. Le complexe immun IgE se lie avec CD23 situé sur les lymphocytes B et l'ensemble est transporté vers les follicules B de la rate. CD23 est nécessaire en immunophénotypage pour différencier une LLC qui est $CD23^{+}$ d'un lymphome du manteau qui est $CD23^{-}$. CD23 caractérise donc les cellules B des centres germinatifs et n'est pas retrouvé sur les LB de la zone du manteau. Initiallement, cette molécule a été aperçue sur des lymphocytes infectés par le virus de l'EBV (18).

CD22 est une glycoprotéine membranaire de type I appartenant à la famille Siglec (sialic-acid-binding-immunoglobulin-like lectin), famille de récepteurs qui inhibent la signalisation du BCR par la phosphorylation de leur domaine ITIM (Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs). CD22 est une des seules molécules à avoir un domaine ITIM qui régule de façon négative le BCR(19).

CD20 est une phosphoprotéine transmembranaire qui fonctionne comme un canal calcique. Cet antigène joue un rôle important dans l'activation et la différenciation des cellules B. L'expression de CD20 apparaît tard dans la lymphogènèse B et sa densité augmente au fil de la différenciation. Les lymphocytes B précurseurs expriment faiblement CD20 par rapport aux cellules B matures. CD20 est très faiblement exprimé à la surface des lymphocytes de LLC alors que son taux est important dans les autres leucémies B (comme la leucémie à tricholeucocytes par exemple)(20). Plusieurs articles ont montré que l'expression de CD20

était corrélée à un autre marqueur retrouvé à la surface des lymphocytes B, FMC7 (21) qui est un épitope de CD20 (22). Des délétions au niveau de la région intracellulaire de CD20 entraînent une nette diminution d'expression de FMC7 par anomalie de conformation de CD20. Les taux de réponse à l'anticorps anti-CD20 utilisé en monothérapie dans la LLC sont inférieurs à ceux observés dans les LMNH. La faible expression de CD20 par les lymphocytes tumoraux dans le cas de la LLC peut être une raison de cette différence d'efficacité (23). Il existe également une perte aiguë d'expression de CD20 par les cellules de LLC suite à un traitement par Rituximab. En effet, l'administration d'une dose standard de rituximab (375mg/m²) est suivie d'une diminution rapide des cellules B $CD20^+$ circulants dans les premières minutes puis d'un rebond du nombre de lymphocytes tumoraux circulants survenant 4 à 6 h après la perfusion qui n'expriment plus le CD20 et ne fixent plus le rituximab. Le mécanisme en cause serait la trogocytose ou "schaving". Ce mécanisme est dose-dépendant. Les cellules de LLC, opsonisées par le rituximab seraient prises en charge par une autre voie conduisant à l'arrachage ou "schaving" du complexe CD20/rituximab au lieu de la destruction cellulaire (24).

FMC7 est une glycoprotéine exprimée sur les lymphocytes B matures. C'est un marqueur important pour différencier la LLC des autres SLP. FMC7 a la capacité de se lier grâce à sa conformation à CD20 en formant un complexe multimérique (21).

VII. Clinique

A. Circonstance de découverte

Cinquante pour cent des patients sont asymptomatiques au moment du diagnostic. La découverte d'une LLC est souvent fortuite lors d'un bilan sanguin systématique où est mise en évidence une hyperlymphocytose isolée (25). Trente à 40% des patients environ n'ont aucun symptôme au moment du diagnostic. Lorsque les patients sont symptomatiques, les symptômes sont peu spécifiques : asthénie, perte de poids, sueurs nocturnes sont plus fréquemment rencontrés que la fièvre spécifique (26) mais révèlent souvent une transformation aggressive d'emblée .La découverte d'adénopathies souvent par le patient est le symptôme clinique le plus fréquent suivi de la présence d'une splénomégalie. L'hépatomégalie est beaucoup moins fréquente. La maladie peut également être révélée par

ses complications telles qu'un syndrome anémique, des infections récidivantes (herpès, zona), ces dernières n'étant retrouvées que dans 15% des cas.

B. Le syndrome tumoral

1. Les adénopathies

Les adénopathies peuvent être localisées ou au contraire généralisées à l'ensemble des aires ganglionnaires, mais sont le plus souvent bilatérales, symétriques et indolores, mobiles par rapport aux plans superficiels et profonds. Elles sont généralement de taille modérée, ne dépassant 4 cm que dans 7% des cas. Leur répartition est variable selon les patients et l'importance de l'atteinte des différents territoires a une valeur pronostique importante dans la classification de Binet. L'examen de choix pour l'étude des adénopathies profondes reste la tomodensitométrie. L'augmentation rapide de la taille d'une adénopathie ou l'apparition de signes de compression doit faire suspecter une transformation en lymphome agressif ou syndrome de Richter.

2. La splénomégalie

Elle n'est retrouvée que dans 20% des cas et est prise en compte dans les classifications pronostiques. Elle est le plus souvent de taille modérée. Des formes purement spléniques ont été décrites et semblent avoir un pronostic plus favorable mais il se peut que ces formes aient été des lymphopathies telles que, par exemple, les lymphomes de la zone marginale.

3. L'hépatomégalie

Elle est plus rare que la splénomégalie, présente dans 5 à 10% des cas. Elle est comptée comme un territoire ganglionnaire dans la classification de Binet.

4. Autres formes

Il existe également des formes extra ganglionnaires avec atteinte des amygdales, du cerveau mais aussi du tractus gastro-intestinal, des poumons, de la plèvre, des reins, des os, *etc*...Mais ces formes sont rares (moins de 1% des cas).

C. Classification

Elle est réalisée selon la classification OMS 2008 (tableau 4). La LLC apparaît dans les lymphoproliférations B à cellules matures.

Classification OMS des lymphomes (2008)

LYMPHOMES B

Prolifération de Cellules B « précurseurs »

Lymphome /*leucémie lymphoblastique B*

Proliférations B matures (périphériques)

Leucémie lymphoïde chronique (LLC) B /

Lymphome lymphocytique

Leucémie prolymphocytaire B

Lymphome splénique de la zone marginale

Leucémie à tricholeucocytes

Lymphome B splénique/leucémie inclassable

Lymphome lymphoplasmocytaire

Maladies des chaînes lourdes

Tumeurs plasmocytaires

Lymphome de la zone marginale extraganglionnaire du MALT (lymphome du MALT)

Lymphome de la zone marginale ganglionnaire

Lymphome folliculaire

Lymphome primitif cutané centro-folliculaire

Lymphome à cellules du manteau

Lymphome diffus à grandes cellules B

Lymphome B à grandes cellules riche en c. T/histiocytes

Lymphome B à grandes cellules du SNC

Lymphome B à grandes cellules primitif cutané, de type jambe

Lymphome B à grandes cellules EBV+ du sujet âgé

Lymphome B à grandes cellules associé à une inflammation chronique

Granulomatose lymphomatoïde

Lymphome B à grandes cellules du médiastin (thymique)

Lymphome B à grandes cellules intravasculaire

Lymphome B à grandes cellules ALK+

Lymphome plasmablastique

Lymphome B à grandes cellules associé à une maladie de Castleman multicentrique HHV8+

Lymphome primitif des séreuses

Lymphome de Burkitt / leucémie de Burkitt

Lymphome B, inclassable, avec aspects intermédiaires entre L. B à grandes c. et Burkitt

Lymphome B, inclassable, avec aspects intermédiaires entre L. B à grandes c. et Hodgkin

LYMPHOMES T et NK

Prolifération de Cellules T « précurseurs »

Lymphome/*leucémie lymphoblastique T*

Proliférations T matures (périphériques)

Leucémie prolymphocytaire T

Leucémie lymphocytaire T à gros grains

Syndromes lymphoprolifératifs chroniques à cellules NK

Leucémie agressive à cellules NK

Syndromes lymphoprolifératifs T EBV+ de l'enfant

Leucémie/lymphome T de l'adulte (HTLV1+)

Lymphome T/NK extraganglionnaire, de type nasal

Lymphome T associé à une entéropathie

Lymphome T hépatosplénique

Lymphome T sous-cutané de type panniculite

Mycosis fongoïde

Syndrome de Sézary

Syndromes lymphoprolifératifs T CD30+ primitifs cutanés

Lymphomes T primitifs cutanés, de sous-type rare

Lymphomes T primitifs cutanés gamma-delta

Lymphomes primitifs cutanés agressifs épidermotropes CD8+ cytotoxiques

Lymphomes primitifs cutanés CD4+

Lymphomes T périphériques sans autre précision

Lymphome T angio-immunoblastique

Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK+

Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK-

Les entités *en italique* sont des entités provisoires.
Les entités les plus fréquentes sont surlignées en caractères **gras.**

Tableau 4. Classification OMS des lymphomes (2008)

VIII. Complications

A. Complications non infectieuses

1. Syndrome de Richter

La LLC peut évoluer à plus ou moins long terme en un lymphome de haut grade qui correspond au syndrome de Richter. Ce syndrome a été décrit la première fois en 1928 par Maurice N.Richter qui a rapporté le cas d'un patient avec un tableau de lymphadénopathie et hépatosplénomégalie rapidement fatal dont l'anatomopathologie montrait deux types de cellules : des cellules renfermant des lymphocytes de petite taille et d'autres renfermant des cellules polymorphes plus grandes au rapport nucléocytoplasmique plus élévé et au cytoplasme plus basophile. Il peut s'agir d'un lymphome B diffus à grandes cellules, lymphome de Hodgkin, leucémie prolymphocytaire, leucémie aiguë. Le syndrome de Richter se développe entre 2 et 8 % des patients porteurs de LLC (27). Le diagnostic se fait devant l'apparition de signes généraux (perte de poids, anorexie), d'une fièvre sans infection apparente et une progression rapide de la taille des adénopathies. Il est prouvé sur l'histologie de la biopsie d'une adénopathie. Du point de vue biologique il existe fréquemment une élévation des Lactates Déshydrogénases (LDH), une pancytopénie ou son aggravation, et quelquefois une hypercalcémie par augmentation de la résorption osseuse. Les mécanismes notamment moléculaires ne sont pas complètement connus concernant la transformation des cellules de la LLC en cellules de lymphome de haut grade. Il peut s'agir d'une deuxième tumeur indépendante ou une transformation des cellules de la LLC secondaires à l'apparition de nouvelles anomalies génétiques. Une étude italienne récente a montré que le variant du gène LRP4 (famille des récepteurs des lipoprotéines de faible densité) augmentait le risque de Richter (28) ; de même d'autres facteurs sont connus pour augmenter ce risque, notamment CD38 >30%, profil non muté ainsi que les anomalies touchant TP53 soit par délétion, soit par mutation ainsi qu'une amplification ou translocation de c-myc (29) (30). Le syndrome de Richter peut aussi être induit par des infections virales telle les infections à Epstein Bar virus (EBV) ou par des anomalies génétiques surtout des anomalies de nombre avec gains ou pertes comme la trisomie 12 ou les anomalies du chromosome 11 (délétion 11q). En effet ces anomalies sont retrouvées plus

fréquemment chez les patients qui transforment et apparaissent pour la moitié d'entre elles au moment de la transformation (27). Le pronostic d'un syndrome de Richter reste sombre ; la médiane de survie ne dépasse pas les 5 à 8 mois. Le traitement du syndrome de Richter est adapté au type de Richter avec notamment la polychimiothérapie associée à l'immunothérapie pour les formes agressives.

2. Cytopénies

Les deux causes principales d'anémie et de thrombopénie dans la LLC sont :

- Les conséquences de l'infiltration médullaire
- Une origine auto-immune

L'infiltration de la moelle par les cellules B est un phénomène plutôt tardif dans l'évolution de la maladie contrairement aux cytopénies d'origine immune qui peuvent survenir à n'importe quel moment. Elles peuvent se manifester par une anémie hémolytique auto-immune (AHAI), un purpura thrombopénique idiopathique (PTI), une agranulocytose auto-immune, une érythroblastopénie.
Les classifications actuellement utilisées de Binet et Rai ne font pas la distinction entre les cytopénies d'origine auto-immune et celles secondaire à l'envahissement médullaire.
Une équipe de Barcelone a écrit une revue concernant les cytopénies immunes observées au cours de la LLC (31), à savoir :

- L'anémie hémolytique auto-immune (AHAI)
- La thrombopénie périphérique immune (PTI)
- L'érythroblastopénie (Pure red-cells aplasia : PRCA))
- Le syndrome d'Evans qui associe PTI et AHAI

Ces dernières ont été initialement décrites dans les années 1960. La fréquence d'apparition de ces manifestations varie au cours du suivi de la maladie entre 4,3% et 9,7 %, l'AHAI étant la complication la plus fréquente (7%), le PTI et PRCA ne représentent que 1,2% des cas. La fréquence de ces complications lorsqu'elles ont une symptomatologie clinique varie entre 2 et 12% alors que la survenue sérologique sans symptôme clinique varie entre 8 et 41%, il

faut donc savoir rechercher ces manifestations auto-immunes biologiquement de façon systématique. Le risque de survenue de LLC serait augmenté chez les patients ayant des antécédents d'AHAI (Odd Ratio 104). A la fin de l'article, les auteurs discutent d'autres manifestations immunes comme la maladie des agglutinines froides, le pemphigus paranéoplasique et les neuropathies avec activité anti-MAG qui sont certes, plus rares mais qui peuvent être rencontrées.

Une autre étude réalisée par l'équipe de Carol Moreno montrait que sur 960 patients atteints de LLC, 70 (soit 7%) patients présentaient une cytopénie auto-immune (dont 19 étaient détectés au diagnostic, 3 avant le diagnostic et 48 pendant l'évolution de la maladie) (32). Quarante-neuf patients avaient une AHAI, 20 un PTI et un patient présentait à la fois un PTI et une AHAI.

Il existe aussi une association de ces complications avec un stade avancé de la maladie et un âge plus avancé des patients. L'AHAI et le PTI semblent aussi être associés à des LLC plus graves (avec un profil non muté, une expression élevée de ZAP-70 et une augmentation de la β_2 microglobuline). Il a été montré qu'il existait un lien statistique réel entre la présence d'une cytopénie auto-immune et les autres facteurs pronostiques de la maladie (c'est-à-dire taux de lymphocytes dans le sang, le temps de doublement rapide des lymphocytes, le taux élévé de $\beta_2$microglobuline, forte expression de CD38 et de ZAP-70) (tableau 5)

Clinical prognostic factors
Advanced stage
Older age
Male
High white cell count
Short lymphocyte doubling time
Biological prognostic factors
Beta 2 microglobulin
High CD38
High ZAP 70
Unmutated *IGVH* genes
Poor risk cytogenetics

Tableau 5. Facteurs pronostiques corrélés aux manifestations auto-immunes dans la LLC (31)

Cependant il ne semble pas exister de réelle différence entre les patients porteurs de cytopénie auto-immune et ceux indemnes de ces manifestations ni le moment de la découverte de la cytopénie (c'est-à-dire avant, pendant ou après le diagnostic). Par contre, les patients ayant un stade avancé de la maladie (stade C de Binet) avec une cytopénie auto-immune ont une survie globale meilleure que les patients présentant un stade élevé en relation avec une infiltration massive de la moelle osseuse (figure 3).

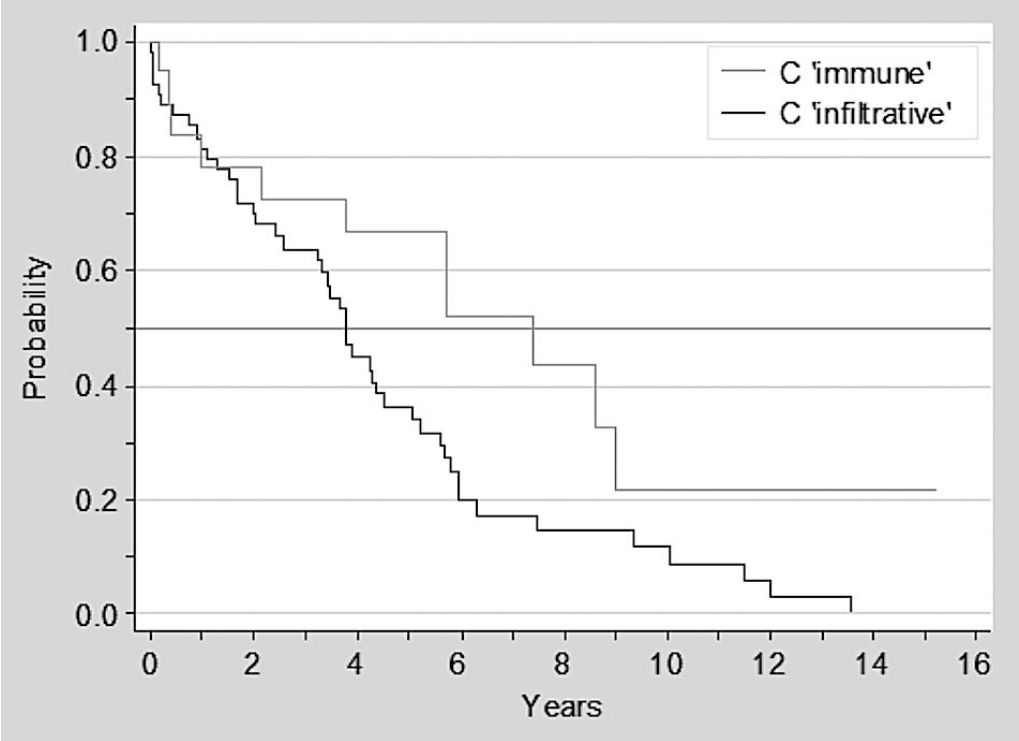


Figure 3. Survie des patients atteints de LLC en stade C (secondaire à une cytopénie auto-immune versus secondaire à infiltration médullaire) **(32)**

Ces résultats soulignent l'importance de connaître l'origine de la cytopénie (auto-immune ou par infiltration) qui conditionnera le pronostic et le traitement. La pathogénie de cette auto-immunité est de mieux en mieux comprise avec la présence de cellules B $CD5^+$ qui sécrètent des auto-anticorps polyréactifs de type IgM qui pourraient être en cause dans ces cytopénies auto-immunes ainsi qu'une possible régulation négative des cellules T régulatrices (que nous exposerons plus loin). Le traitement de ces manifestations est la corticothérapie et les immunoglobulines polyvalentes en première intention. En cas de corticodépendance, de résistance ou d'échec, le traitement de recours n'est pas bien codifié. La splénectomie peut

être envisagée ainsi que les anticorps monoclonaux. Une étude française (33) a proposé l'association de Rituximab/Cyclophosphamide/Dexaméthasone (RCD) chez des patients avec AHAI, PTI, syndrome d'Evans ou érythroblastopénie dont 81% présentaient une rechute après traitement par corticoïdes, splénectomie, rituximab ou alemtuzumab. Ces complications survenaient en moyenne 60 mois après le diagnostic de LLC et presque 90% des patients répondaient au traitement par RCD. Ce travail permet de souligner l'intérêt de l'immunochimiothérapie dans les complications auto-immunes de la LLC.

B. Complications infectieuses

1. Mécanismes

Les infections sont la cause la plus fréquente de morbidité et de mortalité au cours des LLC et surviennent dans 50 % des cas, particulièrement dans les stades avancés de la maladie. Elles restent responsables de 30 à 50% de décès chez les patients atteints de LLC *(34,35)*.

Les causes sont essentiellement de deux types:

- par incompétence du système immunitaire secondaire à la pathologie : déficit immunitaire humoral avec hypogammaglobulinémie, des anomalies de la lignée T, un déficit dans l'activité du complément et dans la fonction des polynucléaires neutrophiles et des monocytes (tableau 6)

•Hypogammaglobulinemia	•Mucosal immune defect
•T-cell dysfunction	•Splenectomy
•Deficiency of cytotoxic compartment	•Disease duration
•Neutropenia and phagocytic cell defects	•Advanced disease
•Defective complement activity	•Effect of treatment

Tableau 6. Facteurs de risque associés aux complications infectieuses de la LLC **(35)**

- par l'utilisation de nouvelles drogues immunosuppressives comme les analogues de purine, les alkylants et les anticorps monoclonaux.

Les mécanismes de l'immunosuppression sont multiples et sont énumérés ci-dessous.

a. Une hypogammaglobulinémie

Très fréquente et corrélée au stade et à la durée de la maladie. Elle est liée aux anomalies fonctionnelles des lymphocytes T mais aussi à une dysfonction des cellules B. Elle s'accompagne essentiellement d'infections bactériennes parfois sévères notamment dues à des bactéries encapsulées (comme *Haemophilus influenzae* et *Streptococcus pneumoniae*). La probabilité de développer une hypogammaglobulinémie est de 70 % à 7 ans du diagnostic. Elle est souvent irréversible même après rémission de la maladie. Il existe une corrélation entre le niveau bas des IgG et la sévérité et la fréquence des infections. Ce sont les sous-types IgG3 et IgG4 qui sont prioritairement touchés : le déficit en IgG4 induit plutôt des infections du tractus respiratoire alors que les IgG3 protègent contre les infections à la famille des *Herpesvirus*.

b. Un déficit immunitaire cellulaire

Caractérisé par un déficit en CD4, induit essentiellement par les traitements immunosuppresseurs.

c. La neutropénie et le défaut en cellules phagocytaires

La neutropénie est le plus souvent liée à l'infiltration médullaire et chimio-induite. De plus il existe un déficit en enzymes (myélopéroxydase et lysozyme) dans les monocytes chez les patients présentant une LLC non préalablement traités.

d. Activité du complément

L’activité du complément est anormale chez les patients porteurs d’une LLC. Le déficit en certaines protéines du complément (C1, C4-C2) est associé aux infections à pneumocoque. Le complément joue un rôle majeur dans le contrôle des infections bactériennes.

e. La splénectomie et l'asplénie fonctionnelle

Certains patients sont d'autant plus sensibles aux infections s'ils ont été splénectomisés lors d'un épisode auto-immun antérieur par exemple. Ils sont plus à risque d'infections à des germes encapsulés (*Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae*) raison pour laquelle une vaccination contre le pneumocoque et l'*Haemophilus* est obligatoire ainsi qu'un traitement antibiotique prophylactique par pénicilline V pendant plusieurs années.

2. Germes incriminés

Les infections sont essentiellement bactériennes, affectant l'appareil respiratoire, la peau et l'appareil urinaire : les septicémies sont assez fréquentes. Les germes les plus fréquemment retrouvés sont *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae,...* Les infections opportunistes à *Listeria monocytogenes, Mycobactéries, Cryptococcus* sont plus rares. Les infections fongiques sont le plus souvent dues aux champignons filamenteux *(*comme *Aspergillus spp)* ou des levures comme le groupe des *Candida.* Les infections virales les plus fréquentes sont dues aux *Herpesvirus* : *Herpes simplex* ou *VZV*. On peut aussi voir des réactivations des hépatites B et C. Les infections à *CMV* sont secondaires à un important déficit en CD4 plus souvent décrites après traitement par alemtuzumab.

3. Facteurs de risque

Les facteurs de risque infectieux démontrés *(36,37)* sont *:*

- le nombre de lignes de chimiothérapie (34% d'infections en première ligne vs 58% en nième ligne) avec un Odd Ratio à 2,24,
- le stade de la maladie (essentiellement stade C de Binet ou stade III/IV de Rai) (OR à 1,98), élévation de la créatinine sérique (OR à 1,98),
- une corticothérapie associée (en cas de manifestation auto-immune par exemple).

4. Traitement spécifique

a. Perfusions d'immunoglobulines

Dans une étude multicentrique en double aveugle, 84 patients recevaient soit des perfusions d'immunoglobulines soit un placebo pendant 3 semaines. Les perfusions d'immunoglobulines à la dose de 400mg/kg ont permis la réduction de 50% des infections bactériennes modérément sévères mais n'apportaient pas de bénéfice en terme de diminution d'incidence des infections non bactériennes (virales, fungiques) et en terme de mortalité chez ces patients *(38)*. L'utilisation à faible dose d'immunoglobulines (300mg/kg) permet une réduction des infections *(39)*. Une autre étude a comparé deux doses d'immunoglobulines (faible (250mg/Kg) *versus* forte (500mg/kg)) toutes les quatre semaines et a montré des taux d'infections identiques entre les groupes *(40)*. Ce qui laisse à penser que les patients peuvent être aussi bien protégés par des doses plus faibles ce qui réduit le coût du traitement. Le bénéfice maximum était atteint au bout d'un an du traitement prophylactique par immunoglobulines *(37)*.

b. La vaccination

Les stratégies de vaccination des patients présentant une LLC reste décevante notamment pour les patients avec une maladie progressive ou réfractaire *(41)*. La vaccination n'apporte pas de bénéfices sur l'immunodépression, il n'a pas été démontré d'augmentation significative du taux d'anticorps protecteurs post vaccination chez les patients atteints de LLC *(42)*. Seuls les patients avec des taux importants d'IgG présentaient une réponse à la vaccination. Dans une autre étude qui comparait la réponse vaccinale après vaccination contre *Strepotococcus pneumoniae, Haempophilus influenzae* et *Clostridium tetani* dans un groupe "patients" et un groupe "contrôle", il a été mis en évidence une réponse vaccinale maximale dans le groupe "contrôle" alors que le groupe "patients" ne développait que pour 54% d'entre eux un taux d'anticorps suffisant contre *Haemophilus (43)*. Cette étude a montré que la vaccination par des antigènes polysaccharides est inefficace chez les patients présentant une LLC. Il n'existe pas à l'heure actuelle de recommandations internationales quant à la vaccination des patients. Toutefois, les

vaccinations contre *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* sont réalisées régulièrement en pratique courante.

c. Traitement prophylactique

Aucune étude prospective randomisée n'a validé le rôle de la prophylaxie anti-infectieuse chez les patients atteints de LLC, il n'existe donc pas de recommandation claire de cette prophylaxie. Cela dépend du traitement utilisé, de l'âge du patient, du taux de CD4. Il a été montré une augmentation du nombre d'infections à Herpesvirus dans le groupe recevant de la fludarabine par rapport au groupe recevant du Chlorambucil *(44)*. L'utilisation de la prednisone avec la fludarabine augmente le risque d'infections opportunistes *(Listeria monocytogenes, Pneumocystis jirovecii),* la prophylaxie est donc recommandée. De même l'adjonction du cyclophosphamide à la fludarabine (dans les protocoles FCR, FC) nécessite une prophylaxie antivirale et anti-pneumocystose. Une prophylaxie est recommandée lors de l'utilisation de l'alemtuzumab ainsi qu'un dosage de la PCR CMV hebdomadaire devant un risque non négligeable de réactivation du CMV lors de son utilisation *(45)*. Lorsqu'elle est recommandée, la prophylaxie comporte un traitement antiviral par valaciclovir et un traitement anti-pneumocystose par triméthoprime/sulfaméthoxazole. Ce traitement doit être maintenu au long cours au moins jusqu'à récupération d'un taux de CD4 ≥ 200/mm^3.

IX. Cancers secondaires

Le risque de cancer chez les sujets porteurs de LLC est plus important que chez les sujets témoins de même âge et de même sexe. L'incidence de ces cancers est de 6 à 15 % soit 2 fois plus que pour la population générale (46) mais cette incidence a été évaluée sur de petites séries ou des séries rétrospectives. Le mélanome et le cancer du poumon semblent être les plus fréquents (47) puis les tumeurs du cerveau et celles de la prostate. Il semblerait que l'immunosuppression associée à la LLC soit responsable de cette susceptibilité aux néoplasies secondaires (48). Le traitement de chimiothérapie utilisé paraît aussi influencer le risque carcinogène. Le groupe coopérateur français a récemment retrouvé dans les stades A traités par le Chlorambucil au long cours une augmentation significative des cancers épithéliaux par rapport au groupe de patients non traités. Une étude de 2008 a repris 2028

dossiers de patients porteurs de LLC et a comparé l'incidence de cancers associés chez ces patients à ceux de la population générale. Seize pour cent des patients avaient des antécédents de cancer et 11,2% en développaient un au cours d'évolution. Les localisations et types les plus fréquemment retrouvés étaient cutanés (30%), prostatiques (13%), mélaniques (8%), mammaires (8%), lymphomateuses (8%), gastro-intestinales (9%), pulmonaires (6%) et autres (17%). Age avancé, sexe masculin, créatinine, LDH et $\beta_2$microglobuline sériques élevés définissaient les facteurs de risque indépendants de développer une tumeur secondaire. A l'opposé dans cette étude, la nature du traitement pour la LLC n'influençait pas le risque secondaire de tumeur (46).

X. Pronostic

Le pronostic de la maladie est très hétérogène puisque certains patients meurent dans les deux premières années après le diagnostic alors que d'autres survivent plus de 20 ans et décèdent de causes non liées à la maladie. La survie des patients semble corrélée au stade clinique (classification de RAI et BINET). Il est donc extrêmement important de disposer de critères pronostiques permettant des stratégies thérapeutiques adaptées, ce d'autant que, de façon récente, des procédés d'intensification thérapeutique laissent augurer la guérison de certains patients alors que la maladie reste globalement incurable. Des facteurs cliniques ou biologiques isolés ont été rapportés comme indicateurs pronostiques dans des séries anciennes : sexe, âge, importance de la lymphocytose, degré d'atteinte des territoires ganglionnaires et de la rate, anémie, thrombopénie. Il faut attendre Kanti R. Rai en 1975 pour disposer d'une classification intégrant plusieurs facteurs cliniques *(49)*. Binet en 1981 a utilisé l'analyse multivariée décrite par Cox pour proposer une classification anatomo-clinique plus simple se réduisant à trois stades au lieu de cinq *(50)*. La classification de Rai reste très employée aux États-Unis, celle de Binet étant plus populaire en Europe.

A. Classifications pronostiques cliniques

Deux classifications sont actuellement utilisées afin de déterminer les principaux critères de décision thérapeutique.

1. La classification de Binet

La classification de Binet a été établie en 1981 *(50)* (tableau 7). Elle distingue trois stades de la maladie en fonction de critères cliniques et biologiques. Les cytopénies qui sont prises en compte dans cette classification peuvent être liées à une manifestation auto-immune ou à une infiltration médullaire.

	Nombre d'aires ganglionnaires atteintes*	Formule sanguine	Survie moyenne (en années)
Stade A	< 3 aires	Hémoglobine > 100 g/L Plaquettes > 100 x 10^9/L	>10
Stade B	> ou égal à 3 aires	Hémoglobine > 100 g/L Plaquettes > 100 x 10^9/L	7
Stade C	Indifférent	Hémoglobine < 100 g/L et/ou Plaquettes < 100 x 10^9/L	5

Tableau 7. Classification de Binet selon (50)

*Par aires ganglionnaires atteintes, on entend les chaînes ganglionnaires cervicales, axillaires, inguinales (que l'atteinte soit uni- ou bilatérale), la rate, le foie

L'équipe de Montserrat a proposé de définir les formes indolentes de la maladie comme les stades A de Binet avec une lymphocytose inférieure à 30 × 10^9/L, un temps de doublement de la lymphocytose supérieur à 12 mois, un taux d'Hb supérieur à 13 g/dL et une infiltration médullaire de type non diffuse en histologie. Ces malades ont des risques de progression réduits et ont une espérance de survie proche de celui d'une population normale de même sexe et du même âge *(51)*.

2. La classification de RAI

Elle a été publiée en 1975 et révisée en 1980 (49) (tableau 8). Cette classification repose sur des critères cliniques (adénopathies, hépatomégalie, splénomégalie) et biologiques (lymphocytose, anémie et thrombopénie).

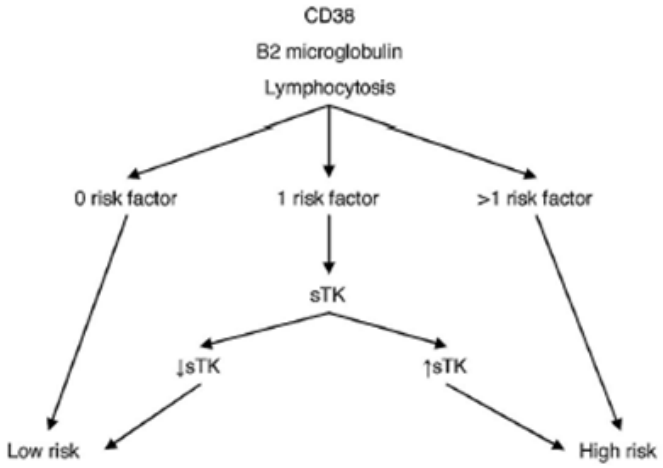
		Description	Survie moyenne (en années)
Stade 0	Risque faible	Lymphocytose sanguine et médullaire	>15
Stade I	Risque intermédiaire	Lymphocytose et adénopathies	9
Stade II	Risque intermédiaire	Lymphocytose et splénomégalie et/ou hépatomégalie	7
Stade III	Risque élevé	Lymphocytose et anémie (Hémoglobine < 11g/dL)	5
Stade IV	Risque élevé	Lymphocytose et thrombocytopénie (Plaquettes < 10^9/L)	5

Tableau 8. Classification de Rai selon (49)

3. Groupe de patients en stade A à risque

Le stade A comprend l'effectif le plus important de patients (80%) et est celui dont l'évolution est la plus hétérogène avec des patients qui vont évoluer très rapidement avec nécessité de débuter un traitement précocement et d'autres qui vont être en abstention thérapeutique plusieurs années. Or il semble intéressant de tenter de déterminer par un score pronostique spécifique les patients avec une maladie indolente afin de réduire le nombre de consultations de suivi. Un article intéressant de l'équipe de Letestu a permis la mise au point d'un arbre décisionnel (figure 4) afin de déterminer les patients de stade A à risque élevé de progression et ceux qui ont un risque faible. Pour cela, ils ont analysé 339 patients tous en stade A et ont utilisé 4 paramètres biologiques indépendants prédictifs de survie sans progression (CD38, lymphocytose, $\beta_2$microglobuline et taux sérique de thymidine kinase). Deux groupes ont été individualisés : les patients sans ou avec un facteur de risque (parmi lesquels 85% de ce groupe n'ont pas progressé 7 ans après le diagnostic) et les patients avec 2 facteurs ou plus pour lesquels la PFS médian était de 20 mois. Ainsi grâce à cette stratégie décisionnelle qui est facile et rapide d'utilisation il est possible

d'individualiser les patients en stade A à risque élevé de progression et ceux pour qui il est possible de réduire les visites de suivi devant une maladie indolente (52).



sTK : thymidine kinase soluble

Figure 4. Arbre décisionnel permettant d'objectiver chez des patients en stade A un groupe à risque élevé d'un groupe à faible risque en fonction de facteurs de risque **(52)**

4. Conclusions

Ces stades clinico-biologiques sont essentiels pour définir des groupes de patients avec une maladie d'évolution différente et donc de pronostic différent. En particulier, les patients du stade A de Binet et 0 de Rai ne seront pas traités immédiatement mais bénéficieront d'une surveillance rapprochée afin de surveiller l'évolution de leur maladie avec utilisation de nouveaux facteurs nécessaires pour identifier les patients de stade A à risque d'évoluer rapidement.

B. Facteurs pronostiques biologiques

Depuis plusieurs années, on note une émergence de nombreux facteurs pronostiques qui s'ajoutent aux classifications gold standard de Rai et Binet connues depuis 30 ans, notamment des facteurs moléculaires et caryotypiques qui ont modifié la prise en charge des patients du point de vue thérapeutique (tableau 9). Le but de ces nouveaux facteurs est

double : tout d'abord pouvoir mieux différencier les formes indolentes des formes agressives au moment du diagnostic même si classées dans un même stade et ensuite essayer d'ouvrir des pistes de recherche thérapeutique dans la mesure où à l'heure actuelle le seul traitement curatif est l'allogreffe qui reste d'indication délicate.

Au moment du diagnostic la plupart des patients sont asymptomatiques et en stade A de Binet *(25)* mais cette classification reste clinique et ne rend pas compte de l'évolution de l'affection.

Prognostic factor	Clinical risk	
	Low	High
Clinical features		
Sex	Female	Male
Clinical stage	Binet A/Rai 0	Binet C/Rai III-IV
Morphology		
Lymphocyte morphology	Typical	Atypical
Pattern of marrow trephine infiltration	Nodular or interstitial	Diffuse
Chromosomal abnormalities	Normal Trisomy 12 13q– (sole)	17p– 11q–
CD38 expression	<20%-30%	>20%-30%
ZAP-70 expression	<20%-30%	>20%-30%
IgV_H gene status	Mutated	Unmutated
Markers of tumor burden or proliferation		
Lymphocyte doubling time	>12 mo	≤12 mo
β_2-microglobulin levels	Low or normal	High
Thymidine kinase	Low or normal	High
Lactate dehydrogenase	Low or normal	High
Soluble CD23 levels	Low or normal	High
Markers of angiogenesis		
Microvessel density	Low or normal	High
Serum VEGF levels	Low or normal	High
Tumor suppressors or oncogenes p53	Normal	Loss or mutation/ dysfunction

Tableau 9. Facteurs pronostiques dans la LLC **(53)**

Les différents marqueurs identifiés actuellement peuvent être classés en plusieurs groupes :

1- Les caractéristiques cliniques (âge, sexe, PS)

2- Les paramètres biologiques qui reflètent la masse tumorale ou l'activité de la maladie (lymphocytose, taux de LDH, type d'infiltration médullaire ou TDL)

3- Des marqueurs sériques (le CD23 soluble, la β2 microglobuline ou la thymidine kinase)

4- Les marqueurs génétiques des cellules tumorales (anomalies cytogénétiques, anomalies géniques)

5- Etat mutationnel des gènes codant pour la partie variable des chaînes lourdes des Ig (IgVH) et/ou les marqueurs considérés comme corrélés à ce facteur (CD38, ZAP-70)

Dans le chapitre suivant, nous allons nous intéresser exclusivement aux paramètres biologiques, génétiques et moléculaires qui ont connu un grand essor ces dernières années.

1. Le temps de doublement des lymphocytes (TDL)

Le TDL est déterminé en calculant le nombre de mois nécessaires pour que le nombre absolu de lymphocytes sanguins double. Plusieurs études ont démontré que les patients pour qui le TDL est supérieur à 12 mois ont une durée de vie plus longue et donc un meilleur pronostic que ceux avec un TDL inférieur ou égal à 12 mois. Le TDL inférieur à 12 mois est donc caractéristique de maladies évolutives mais il faut que le taux de lymphocytes initial soit supérieur à 15G/L. L'équipe de E. Montserrat a rapporté que les patients de stade A ou B avec un TDL inférieur à 12 mois ont une médiane de survie plus courte que les patients avec un TDL supérieur à 12 mois (48 mois vs 66 mois) (figure 5) *(54)*. Le TDL manque cependant de pertinence. Effectivement, la valeur du TDL est toujours rétrospective et son évolution peut être variable dans le temps. Il est donc difficile de faire un choix thérapeutique sur ce seul critère puisque ce taux peut évoluer par palier successif pour une maladie plus ou moins agressive. Néanmoins à un temps t, le TDL est un très bon marqueur pronostique mais reste malheureusement infaisable en routine. L'équipe de Messmer a mis au point un marquage isotopique non radioactif des cellules B de LLC par méthode de marquage à l'eau lourde. Cette techniqe a permis de montrer que la LLC n'est pas une maladie statique mais qu'il existe un processus dynamique avec des cellules qui prolifèrent et meurent à des moments différents *(55)*.

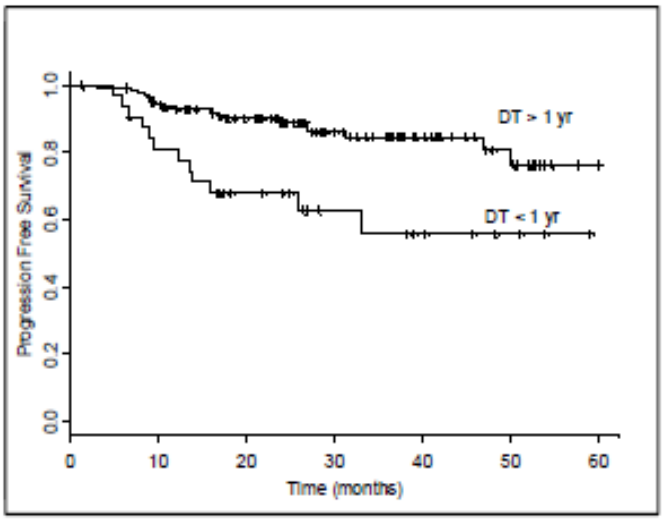


Figure 5. Représentation de la PFS en fonction du TDL (> ou < à un an) **(54)**

2. La β2 microglobuline

La β_2 microglobuline est une petite globuline produite par toutes les cellules nucléées de l'organisme. Elle est retrouvée sur la membrane de ces cellules où elle est liée au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I dont elle constitue la chaîne légère. Cependant les 3 sites essentiels de sa synthèse sont le lymphocyte T CD8, le lymphocyte B et les cellules tumorales. La β_2 microglobuline synthétisée par les lymphocytes est libérée dans le milieu extracellulaire raison pour laquelle elle correspond à un marqueur sérique pour les patients atteints de LLC corrélé à l'importance de la tumeur et au stade de la maladie. Cette molécule est utilisée dans d'autres hémopathies malignes (myélome multiple, lymphomes) car elle reflète l'importance de la masse tumorale. Une étude rétrospective sur 302 patients non traités du MD Anderson Cancer Center a montré que la β_2 microglobuline est le meilleur marqueur de survie en étude multivariée à 5 ans, notamment chez les patients de stade I et II de Rai (54 mois de survie pour les patients avec un taux élevé vs 116 mois pour les patients avec un taux normal)(56). Cependant une étude prospective n'a pas trouvé que la β_2 microglobuline seule soit un marqueur significatif de survie (57). Ainsi la β_2 microglobuline semble avoir un impact pronostique dans la maladie mais il est nécessaire de recourir à d'autres études pour démontrer son rôle exact comme facteur indépendant et son lien avec le TDL et le stade clinico-biologique de la maladie.

3. La thymidine kinase (TK) et le CD 23 soluble

a. La thymidine kinase

C'est une enzyme cellulaire impliquée dans la réparation de l'ADN lors de sa synthèse. La forme prédominante de la TK est présente sur les cellules en division alors qu'elle est absente sur les cellules quiescentes. La concentration de thymidine kinase sérique est corrélée à la masse tumorale et à l'activité proliférative de la LLC ; elle permet de prédire la progression de la maladie chez les patients atteints de la forme précoce de LLC. Des études rapportent qu'un taux élevé de TK est corrélé avec une maladie progressive (58). De même, la médiane de survie de patients en stade A de Binet avec un taux de TK élevé (> 7,1 U/L) est significativement inférieure par rapport aux patients avec un taux faible (figure 6) (59).

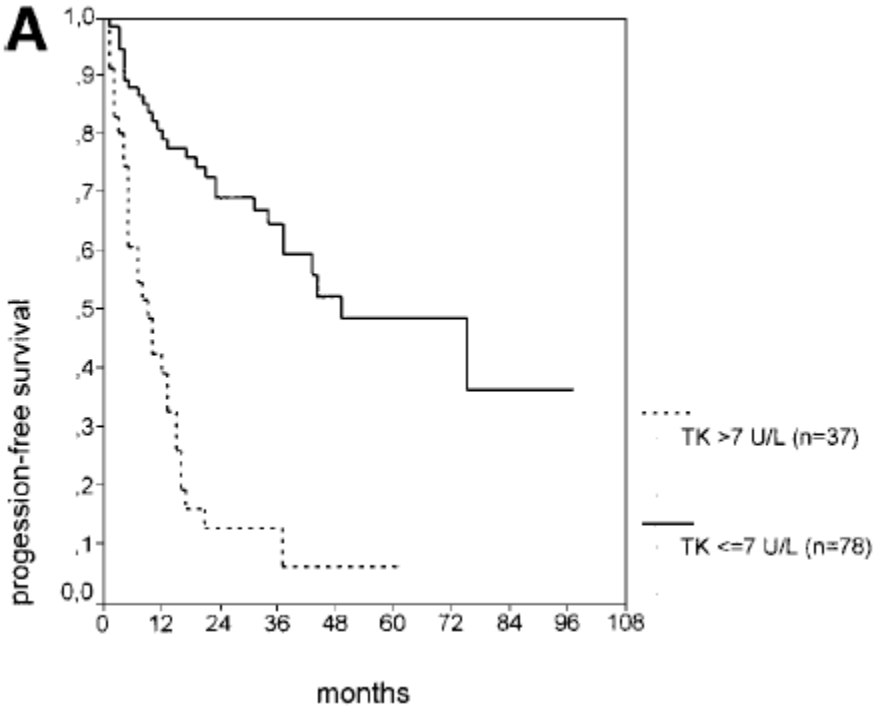


Figure 6. Représentation de la PFS chez des patients en stade A selon un taux de TK différent **(59)**

b. Le CD23

La molécule CD23 est un marqueur de surface des cellules de LLC, récepteur de basse affinité des Ig d'isotype E. C'est une glycoprotéine transmembranaire qui peut être clivée en

fragments solubles de tailles variées (les CD23 solubles ou sCD23). Une concentration sérique élevée de sa forme clivée (sCD23) indique un pronostic péjoratif : cette élévation de sCD23 sérique est associée à des caractéristiques défavorables comme une infiltration diffuse de la moelle osseuse, un temps de doublement court et une progression de la maladie dans les formes précoces de LLC. Pour M. Sarfati l'élévation du CD23 sérique est un élément majeur du pronostic. Dans les stades A, le temps médian de progression est lié au taux de CD23 initial (figure 7), et lors du suivi régulier de ce dosage, la multiplication par deux du taux augmente le risque relatif de progression de la maladie de 15 et l'augmentation du taux précède de 48 mois la progression de la maladie (60). Dans une étude multivariée, Molica a accordé une valeur prédictive importante à l'augmentation simultanée des taux de CD23 et β_2 microglobuline (57). De même une étude nancéienne a confirmé la valeur pronostique du CD23s avec un taux plus élevé de CD23s chez les patients présentant une maladie progressive et une survie plus courte (61).

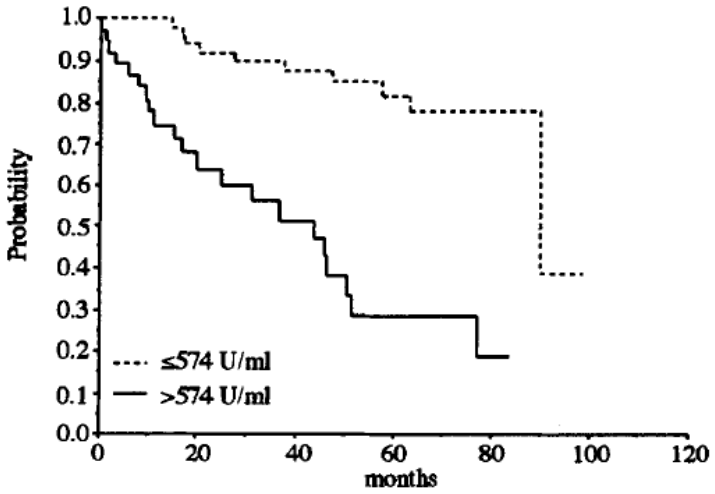


Figure 7. Représentation de la PFS chez des patients en stade A selon le taux de CD23 soluble **(60)**

C. Nouveaux outils pronostiques

1. Mutation des IgVH

Initialement, il avait été supposé que dans la LLC les lymphocytes B étaient des lymphocytes naïfs qui n'avaient jamais rencontré d'antigènes et donc n'avaient pas subi de réarrangement des gènes de leur Ig. Or, la moitié des clones de LLC présentent un

réarrangement somatique de leur Ig de surface. Certains clones proviendraient donc de cellules B mémoires (statut muté) et d'autres dites "naïves" ne présentent pas de mutation somatique (non muté). Les Ig sont des glycoprotéines constituées de deux chaînes lourdes et deux chaînes légères. Chaque chaîne comprend une région constante et une région variable. Les gènes qui codent pour la chaîne lourde se trouvent sur le chromosome 14 sous forme de segments géniques. Trois de ces segments codent pour le domaine variable D, V et J et un pour le domaine constant C. Il existe de nombreux segments des différents domaines et le réarrangement de ces segments ainsi que les processus hypersomatiques expliqueraient le nombre important d'Ig différentes reconnaissant les divers Ag qui peuvent être synthétisées. Le caractère non muté est défini par une homologie de séquence de 98 % ou plus. Deux publications simultanées dans Blood en 1999 ont mis en évidence que le statut mutationnel de la partie variable du gène des chaînes lourdes des Ig (IgVH) a une valeur pronostique dans la LLC (62,63).

Il existe dans ces études une différence significative de survie pour les patients de stade A de Binet en fonction du statut mutationnel. Par exemple la survie pour les patients présentant une mutation du gène de leur IgVH est de 24 ans contrairement à ceux dont le gène est non muté qui ont une survie de 8 à 9 ans (figure 8). Il semble également exister un lien entre le statut non muté et la mise en route d'un traitement, la réponse au traitement et la présence d'anomalies génétiques de mauvais pronostic. D'autres études ont identifié des sous-groupes de patients avec des mutations somatiques spécifiques de la séquence IgVH (VH3-21) et ayant un pronostic identique c'est-à-dire défavorable à ceux n'ayant pas de mutation du gène (64,65). D'après une étude publiée dans Blood en 2002, la survie globale est identique pour les patients non mutés et ceux présentant la mutation spécifique VH3-21 c'est-à-dire faible par rapport aux patients mutés pour l'IgVH (figure 9).

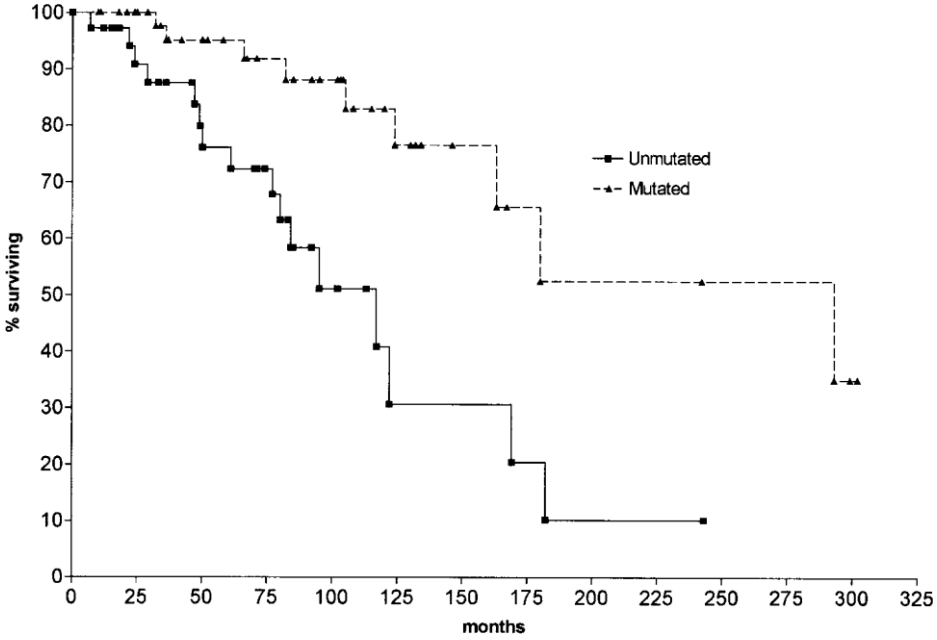


Figure 8. Représentation de la survie globale selon le statut mutationnel des Ig avec une médiane de survie estimée à 293 mois pour les formes mutées vs 117 mois pour les formes non mutées (p=0,001) **(63)**

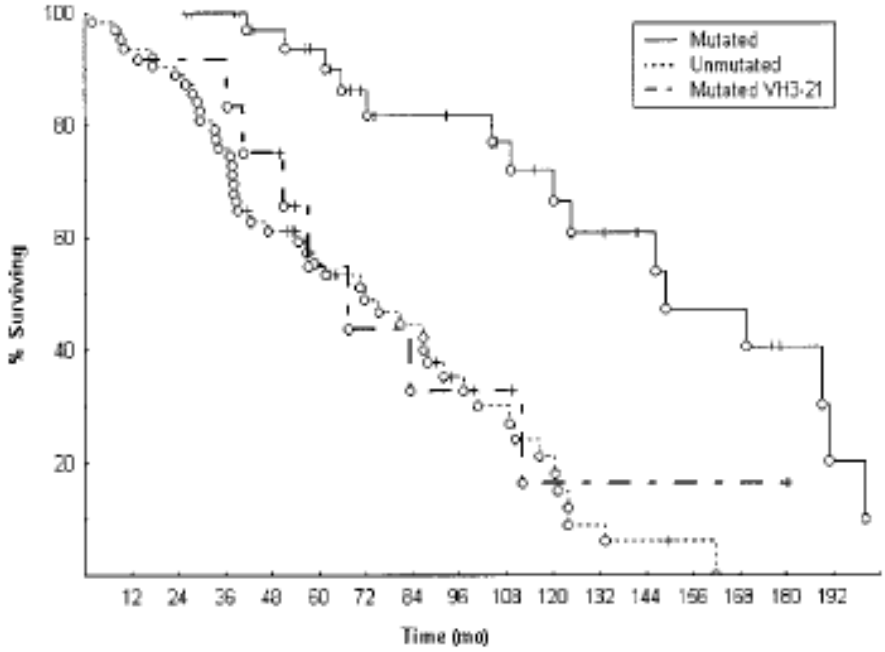


Figure 9. Représentation de la survie globale entre des LLC avec statut muté/non muté et avec la mutation du gène VH3-21. Il existe une différence significative en terme de survie entre les statuts muté/non muté (p<0,001) et entre mutés et les mutés VH3-21 (p=0,018) **(65)**.

Ces études montrent que la LLC est une maladie hétérogène avec vraisemblablement 2 types de populations lymphocytaires bien distincts. Ainsi la population B des LLC de bon pronostic

exprime les gènes mutés codant pour les Ig et correspondrait à la prolifération d'une cellule B ayant été en contact avec un antigène dans le centre germinatif, elle serait donc d'origine post-germinale ; au contraire, dans les LLC de mauvais pronostic il s'agit de cellules naïves n'ayant jamais rencontré leur antigène et ne présentant pas de mutation au niveau des gènes codant pour les Ig c'est-à-dire d'origine pré-germinale, à un stade de différenciation plus précoce. Cependant il existe de nombreuses données sur le principe que la LLC est une accumulation d'un seul et unique clone cellulaire ce qui se prouve par l'aspect cytologique et phénotypique identique pour toutes les cellules quel que soit le statut mutationnel. Des études du profil des gènes exprimés par les lymphocytes B de LLC par la technique des puces à ADN (microarray) sous-tendent l'idée que tous les cas de LLC auraient une origine commune ou suivraient un processus commun de transformation maligne (66). Concernant la réalisation de ce test, il reste malheureusement long, difficile et onéreux et ne se fait pas de manière systématique sauf dans le cadre de protocoles.

2. ZAP-70 (zeta-associated protein 70)

C'est une protéine intracellulaire tyrosine kinase de la famille Syk qui favorise le signal d'activation délivré par les récepteurs de surface des lymphocytes T et NK à l'état normal (67). Elle est absente des lymphocytes B matures normaux mais retrouvée dans les cellules B de patients atteints de LLC. L'équipe américaine de A. Rosenwald en 2001 a montré en utilisant des puces à ADN que certaines cellules de LLC exprimaient ZAP-70 (ZAP-70 semble également être exprimé dans un grand nombre d'autres hémopathies malignes) (68). La protéine ZAP-70 peut être phosphorylée et activée, après stimulation du BCR des cellules de LLC. Une fois activée elle peut coopérer avec Syk, une tyrosine kinase intervenant à l'état normal au niveau du signal de transduction du BCR, favorisant ainsi la prolifération des cellules B tumorales (figure 10) (69). Des études plus récentes ont montré que la protéine ZAP-70 était majoritairement exprimée chez les patients avec des gènes IgVH non mutés et chez les patients $CD38^{+}$. Ainsi, la présence de la protéine ZAP-70 dans les LB de la LLC serait corrélée à un mauvais pronostic (70,71). Il a également été rapporté que la valeur pronostique de l'expression de ZAP-70 apparaît supérieure à celle du statut mutationnel IgVH (72).

Outre son intérêt clinique dans le pronostic des LLC, cette découverte suggérerait que le

récepteur à l'antigène (BCR) des cellules de LLC serait susceptible d'utiliser ZAP-70 pour induire une signalisation. La démonstration d'une phosphorylation de ZAP-70 et d'une association de ZAP-70 au CD79a, après pontage du BCR, sont venues confirmer cette hypothèse (69).

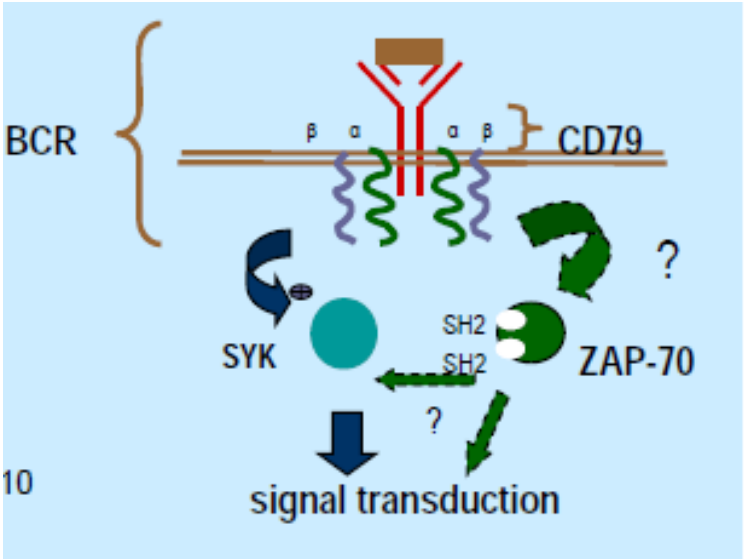


Figure 10. Facteurs ayant un rôle dans la signalisation par le BCR d'après **(73)**

Il existe donc deux situations distinctes :

- <u>LLC non mutée</u> : le BCR est relativement fonctionnel, il y a stimulation active par l'antigène ce qui induit une prolifération et une évolution vers une forme agressive même si cette stimulation est moins efficace pour les lymphocytes normaux.
- <u>LLC mutée</u> : le BCR est incompétent, il y a une anergie avec évolution indolente.

Une étude américaine confirme la forte association entre l'expression de ZAP-70 et l'absence de mutation des gènes des IgVH et montre que ZAP-70 est un puissant indicateur de la nécessité d'un traitement (72). ZAP-70 semble donc un marqueur pronostique prometteur, toutefois il existe toujours des difficultés quant au seuil choisi pour classer les patients, le seuil de 20% reste arbitraire et le seuil optimal reste à déterminer. La détection de ZAP-70 par CMF reste une technique difficile car cette protéine est un antigène intracellulaire dont la détection nécessite une perméabilisation de la membrane cellulaire. Une standardisation des techniques est en cours (choix de l'anticorps, seuil de positivité, expression des résultats)

mais les techniques restent difficiles à corréler pénalissant la détection de ZAP-70 en routine.

3. Expression de CD38

Le CD38 est une glycoprotéine transmembranaire de 45kDa qui agit comme un complexe enzymatique adénosine diphosphate-ribose cyclase. Elle est exprimée sur de nombreuses cellules dont les cellules T et B. C'est une molécule qui est présente très précocement dans l'hématopoïèse dès le premier engagement des cellules progénitrices dans la différenciation. Fortement exprimé sur les thymocytes, le CD38 diminue sur les thymocytes circulants et réapparait au moment de l'activation (CD4 et CD8). Le même profil d'expression est retrouvé au cours de l'ontogénie B. Il est aussi présent sur les cellules NK. Son rôle exact n'est pas encore complètement élucidé, l'équipe de Deaglio a montré que le CD38 bloquait la prolifération lymphoïde au niveau médullaire mais paradoxalement il les maintient en survie dans le centre germinatif (74). L'activation de CD38 par des anticorps monoclonaux induit un faible influx calcique dans la cellule qui protège les cellules contre l'apoptose, induit la production d'IL-2 et provoque la prolifération des lymphocytes B lorsqu'ils sont en présence de co-stimulateurs (75). Deux fonctions ont été attribuées au CD38 sur les lymphocytes B et T celui de transducteur de signal et d'ecto-enzyme. Premièrement, le CD38 est une molécule de signalisation du lymphocyte avec des signaux contradictoires puisqu'il entraîne l'apoptose des lymphocytes pro-B mais provoque la prolifération des cellules B matures et deuxièmement, c'est une ectoenzyme qui a la capacité de catalyser la production d'ADP-ribose cyclique (qui est un métabolite du NAD et qui est aussi impliqué dans la réponse cellulaire calcique). Le rôle de CD38 (et des autres ectoenzyme à activité nucléotidase) serait de participer à la fourniture d'énergie nécessaire aux lymphocytes en cours de sélection positive et d'activation en recyclant les nucléotides extracellulaires provenant de la mort des lymphocytes issus de la sélection négative (76,77). De plus en 1999, une étude de l'équipe de Damle a déterminé que les lymphocytes B de LLC exprimant fortement le CD38 (> 30%) présentaient dans 64% un gène IgVH non muté et que l'expression de CD38 avait également une valeur pronostique dans la survie globale similaire au statut mutationnel de IgVH (62). Dans une étude de Blood en 2001 qui étudiait 118 patients de stade faible ou intermédiaire 75% d'entre eux qui étaient $CD38^-$ n'ont pas évolué vers un stade clinico biologique plus

avancé à 5 ans du diagnostic contre seulement 37% des patients $CD38^+$. De même la survie globale est de 92% pour les patients $CD38^-$ *versus* 50% pour les patients $CD38^+$ (78). Dans deux analyses multivariées l'expression de CD38 semble être un facteur de prédiction de la progression de la maladie, la réponse au traitement et la survie. Cette molécule est un marqueur pronostique significatif vis à vis de la survie globale (79,80). Il a été montré que l'association de l'expression de CD38 au statut mutationnel d' IgVH a un pouvoir pronostique supérieur par rapport à l'un ou l'autre pris séparément. Les patients avec un gène de IgVH non muté et 30% ou plus de cellules $CD38^+$ ont une médiane de survie de 8 ans alors que les patients présentant la mutation du gène de IgVH et moins de 30% de cellules CD38 ont une médiane de survie de 26 ans. A noter que le seuil de 30% pour lequel le patient est classé en $CD38^+$ ou $CD38^-$ est arbitraire; le seuil optimal reste à déterminer. Il faut noter que contrairement à la recherche du statut mutationnel du gène des IgVH, la mesure de CD38 est facilement réalisable par CMF et est disponible en routine.

4. Les anomalies cytogénétiques

Les cellules de la LLC sont le siège d'aberrations génomiques récurrentes qui sont néanmoins non spécifiques à la maladie. Contrairement aux autres pathologies lymphoprolifératives matures, les translocations sont rarement observées, tandis que perte et gain de matériel génétique sont plus typiques. La cytogénétique conventionnelle par caryotype standard n'est pas un outil vraiment utile au diagnostic de ces anomalies essentiellement du fait de la difficulté à obtenir des mitoses anormales (non division des cellules ou clones minoritaires) avec un index de prolifération des cellules faible ainsi que la présence d'anomalies cryptiques récurrentes. Le caryotype conventionnel (CC) permet de retrouver environ 40 à 50 % d'aberrations chromosomiques (81). Depuis 1990 se sont développées de nouvelles techniques de cytogénétique moléculaire notamment l'Hybridation In Situ par Fluorescence (FISH) qui a permis la détection d'anomalies récurrentes dans plus de 80 % des cas (82). Les anomalies récurrentes les plus souvent observées dans la LLC (tous stades confondus) et le pronostic qui leur est à ce jour associé sont rapportées dans le tableau 10.

	Incidence par étude caryotypique	Incidence par étude FISH	Région critique /gène cibles	Remarques
Caryotype anormal	48 %	82 %		
del/t(13q)	9,5 %	55 %	13q14.3	Bon pronostic
del(11q)	1 %	18 %	11q22–23.1 ATM	Polyadénopathies Résistance thérapeutique Mauvais pronostic
Trisomie 12	17 %	16 %	12q13–q21	LLC atypique
del(6q)	5,5 %	6 %	6q21–23	
del(17p)	3,4 %	7 %	17p13 (P53)	Pronostic le plus défavorable Résistance thérapeutique
t(11;14)(q13;q32)	?	< 5 %	CCND1 – IGH	Vérifier le diagnostic
t(14;18)(q32;q21)	?	1–2 %	BCL2 – IGH	Vérifier le diagnostic
t(14;19)(q32;q13)	?	<1%	BCL3 – IGH	LLC agressive
t(2;14)(p13;q32)	?	<1%	BCL11A – IGH	LLC agressive sujets jeunes (enfants parfois)

Tableau 10. Anomalies cytogénétiques récurrentes observées au cours de la LLC **(83)**.

La plupart de ces anomalies peuvent être présentes au diagnostic mais peuvent aussi apparaître au cours de l'évolution de la maladie, ce qui peut suggérer leur caractère secondaire.

Les anomalies récurrentes connues comme ayant une valeur pronostique sont : la del(13)(q14.3) qui est souvent cryptique (la plus fréquente des anomalies), la del(11)(q22), la del(17)(p13), la trisomie 12, la del(6)(q21-q23). En revanche, la del(17p) a une incidence défavorable et la del(11q) un impact très défavorable avec une survie inférieure à 80 mois pour ces derniers patients.

Nous allons revoir en détail les anomalies les plus souvent rencontrées et voir leur impact pronostique.

a. Délétion 13q14

La délétion impliquant la bande 13q14.3 est souvent cryptique (non visible par CC) et présente dans 55 à 63 % des cas (9,5% en CC et 55% en FISH). Selon les études, elle représente une des anomalies cytogénétiques les plus fréquentes. Dans l'étude par FISH interphasique de l'équipe de Döhner, il a été montré que les patients avec délétion 13q14 isolée (sans autres anomalies retrouvées avec les différentes sondes utilisées) ont la meilleure survie globale (134 mois vs 111 mois) et la plus longue médiane d'intervalle sans traitement. Il a été montré dans cette étude une incidence favorable de cette délétion sur les courbes de survie qui d'ailleurs semblent les mêmes que pour les caryotypes sans

anomalie (82). Cette région fait actuellement l'objet de nombreuses recherches sur le plan moléculaire afin d'identifier le gène cible. Ce gène serait un gène suppresseur de tumeur qui comprend un microARN dont des délétions chez la souris l'amène à développer des syndromes lymphoprolifératifs (84). La délétion 13q semble donc avoir un rôle spécifique dans la pathogénie de la LLC.

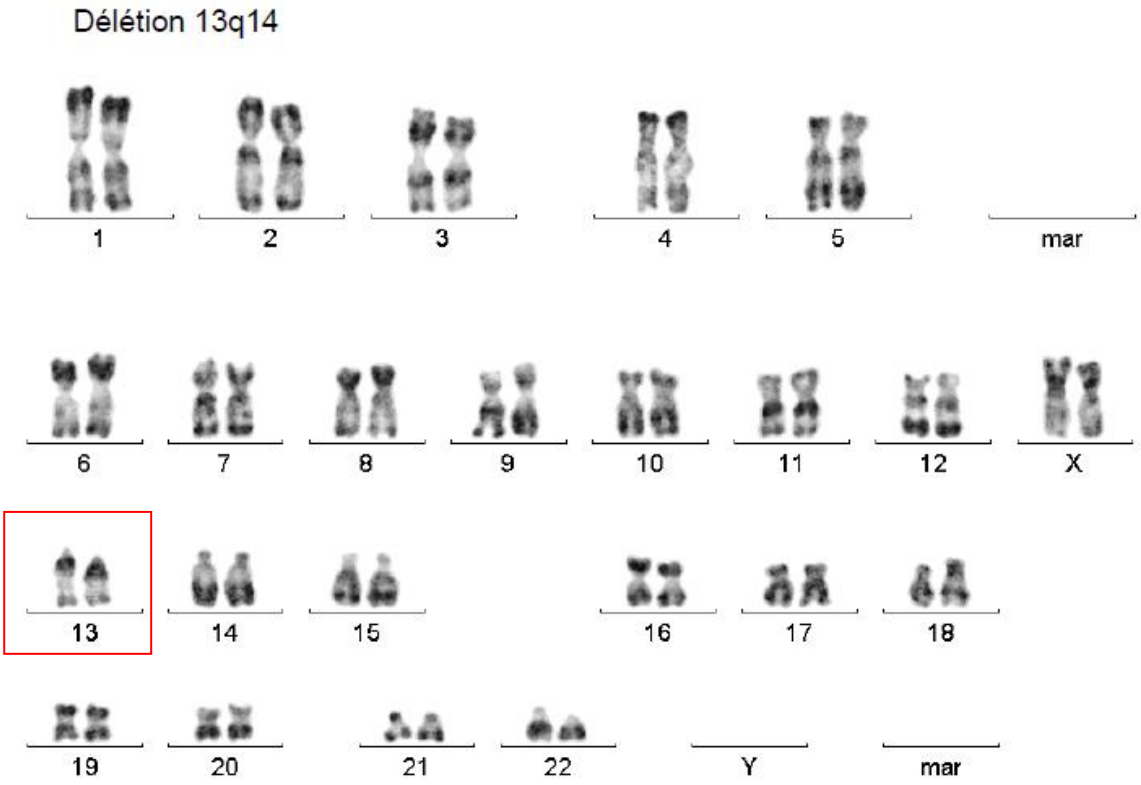


Figure 11. Caryotype conventionnel présentant une perte d'une partie du bras court du chromosome acrocentrique 13

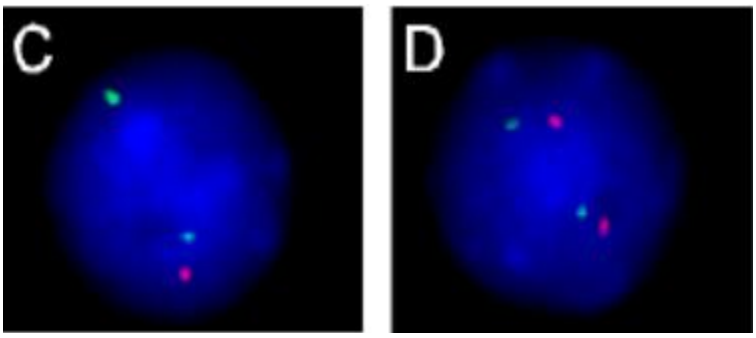


Figure 12. Représentation par FISH avec sonde tel 13qV du noyau C présentant une del(13q) (3 signaux) et du noyau D sans del(13q) (4 signaux)

b. Trisomie 12

La trisomie 12 est retrouvée dans approximativement 13 à 25% des cas (17% en CC et 16% en FISH). C'est la première anomalie récurrente décrite. Elle correspond à une duplication totale d'un des deux chromosomes 12. La valeur pronostique de cette anomalie est controversée. Dans les premières études cytogénétiques univariées réalisées, les patients avec une trisomie 12 isolée avait la survie la plus courte (81). La trisomie correspondrait aussi à une forme de LLC atypique sur le plan cytologique (avec notamment la présence de plus de prolymphocytes) ou immunologique (expression de FMC7 ou des IgS plus forte) avec une évolution plus rapide (plus de stades B et C)(85). Cette anomalie est rencontrée chez des patients à risque (infiltration diffuse de la moelle, TDL< 12 mois, taux sériques de TK et de β2-microglobuline élevés).

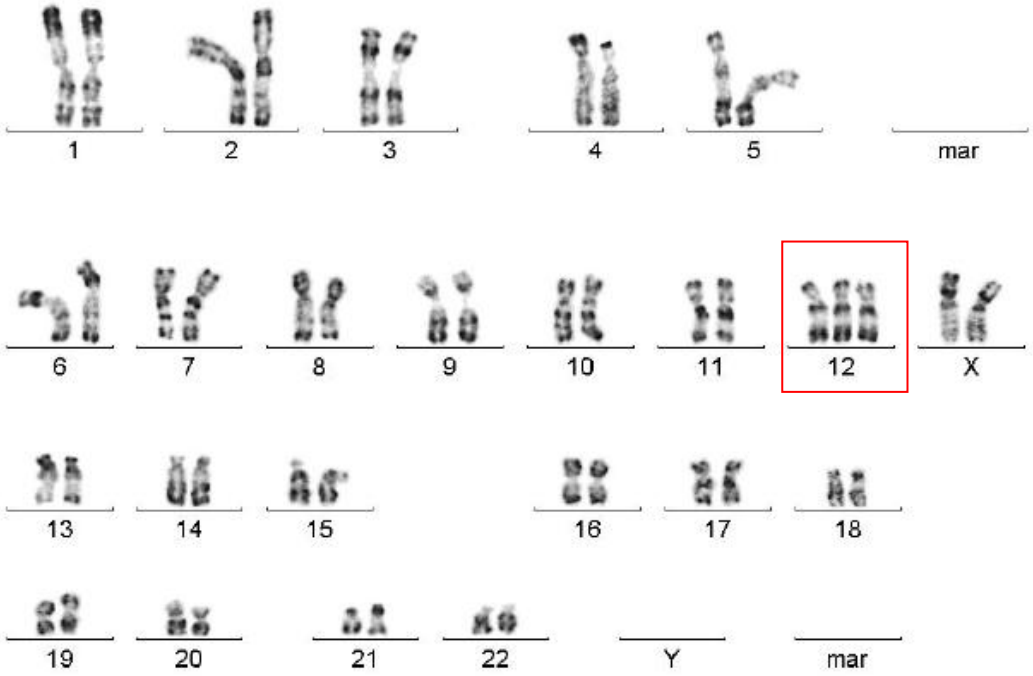


Figure 13. Caryotype conventionnel présentant une trisomie 12

c. Délétion 11q22-23

Les délétions 11q22-23 sont retrouvées dans environ 11 à 18 % des cas (1% en CC et 18% en FISH). Cette délétion 11q est souvent associée à la présence d'adénopathies périphériques multiples, abdominales et médiastinales, une progression plus rapide de la maladie, un intervalle sans traitement plus court (9 mois vs 43 mois) (figure 14) et une survie

globale diminuée (86).

Sur le plan moléculaire, cette région délétée contient le gène ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated) qui est responsable de l'ataxie télangiectasie, maladie génétique appartenant aux phacomatoses. Ce gène joue un rôle dans la réparation de l'ADN, la régulation du cycle cellulaire et l'apoptose.

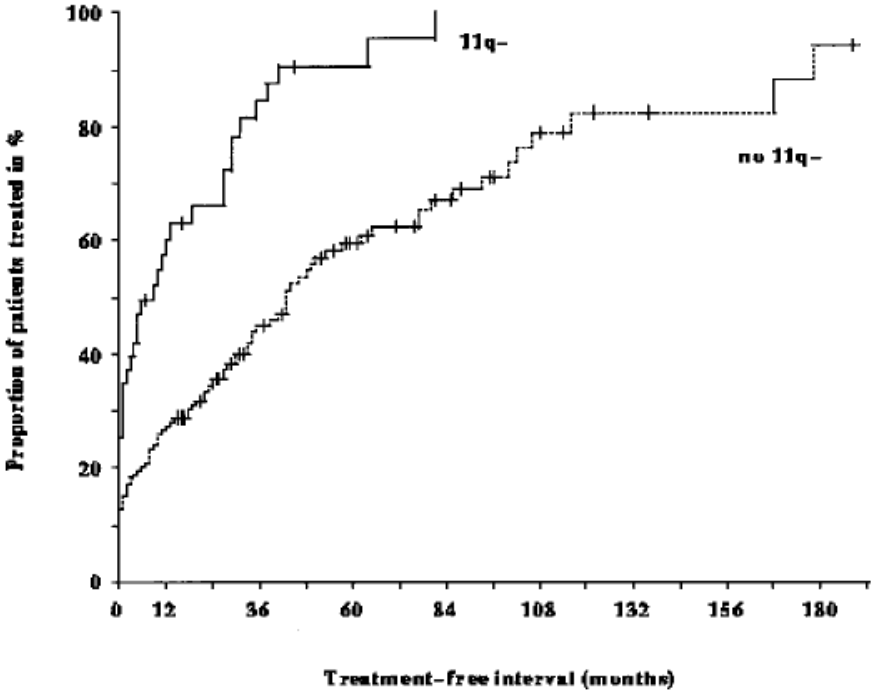


Figure 14 Intervalle de temps sans traitement pour les patients avec del(11q) vs sans del(11q) [Döhner 1997]

Figure 15. Représentation en FISH de la del(11q) avec sonde ATM marquée en rouge

d. Délétion 17p13

Les anomalies structurales du bras court du chromosome 17, responsables le plus souvent de la perte de la bande 17p13 sont observées dans environ 4 % des cas au diagnostic mais augmentent avec les rechutes (81) (3,4% en CC 7% en FISH). Cette bande

porte le locus du gène suppresseur de tumeur TP53 ; le gène p53 est un facteur de transcription se liant à l'ADN régulant les gènes adjacents qui interviennent dans la prolifération cellulaire. Cette perte s'accompagne de la délétion/mutation du second allèle de P53 dans la majorité des cas. L'altération de l'ADN (par exemple dans les cancers) entraîne une activation de p53 qui permet l'apoptose d'où l'efficacité de la chimiothérapie, l'arrêt du cycle cellulaire et la réparation de l'ADN. A l'opposé, l'inactivation de p53 qui se produit le plus souvent dans les tumeurs humaines par des mutations dans le domaine de liaison à l'ADN entraîne un défaut d'apoptose et une expansion clonale et diminue la sensibilité des cellules tumorales à la chimiothérapie. Les anomalies au niveau de TP53 ont un impact pronostique majeur avec une survie globale plus courte et une non-réponse aux agents alkylants et aux analogues de purines (figure 16) (87). En analyse multivariée, la délétion TP53 est le facteur pronostique le plus puissant. Plusieurs études ont montré la résistance au traitement des formes avec del(17p), notamment l'étude CLL4. Le pourcentage de cellules présentant une del(17p) semble influencer le traitement : 39, 22 et 13% de RC et 18, 17 et 87% de non réponse ou de progression selon que le pourcentage de cellules présentant la del(17p) est inférieure à 5%, entre 5 et 20% et supérieur à 20% (88). Plusieurs études ont montré que l'inactivation de p53 était associée à un stade avancé de la maladie, un TDL court, à un faible intervalle sans traitement et à une résistance à la chimiothérapie.

Concernant les patients présentant des mutations de p53 sans délétion 17p, ils se comportent de la même façon que les patients avec délétion à savoir, une survie globale diminuée, une survie sans progression plus faible et une résistance au traitement par analogues des purines (89).

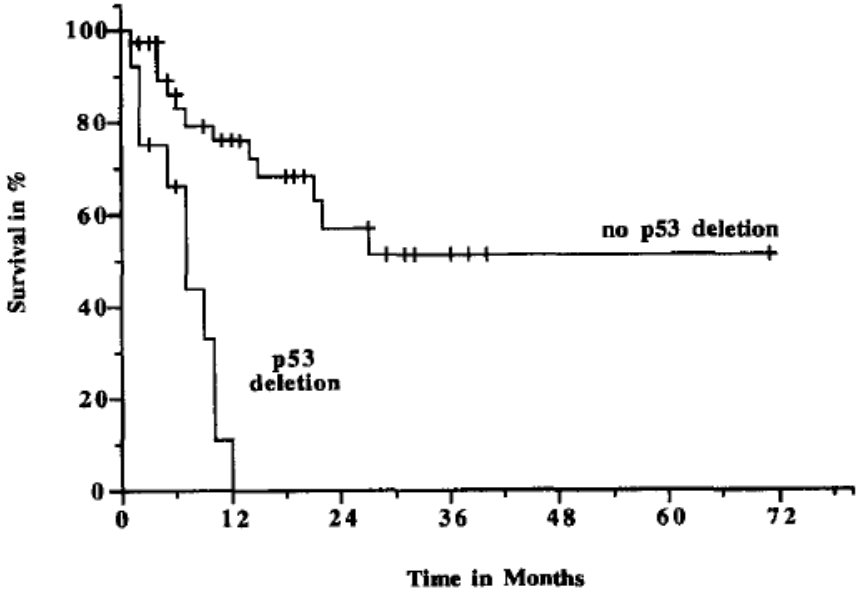


Figure 16. Représentation de la survie après le début d'un traitement par analogue des purines chez des patients avec délétion de p53 vs ceux sans délétion (p<0,001)(87)

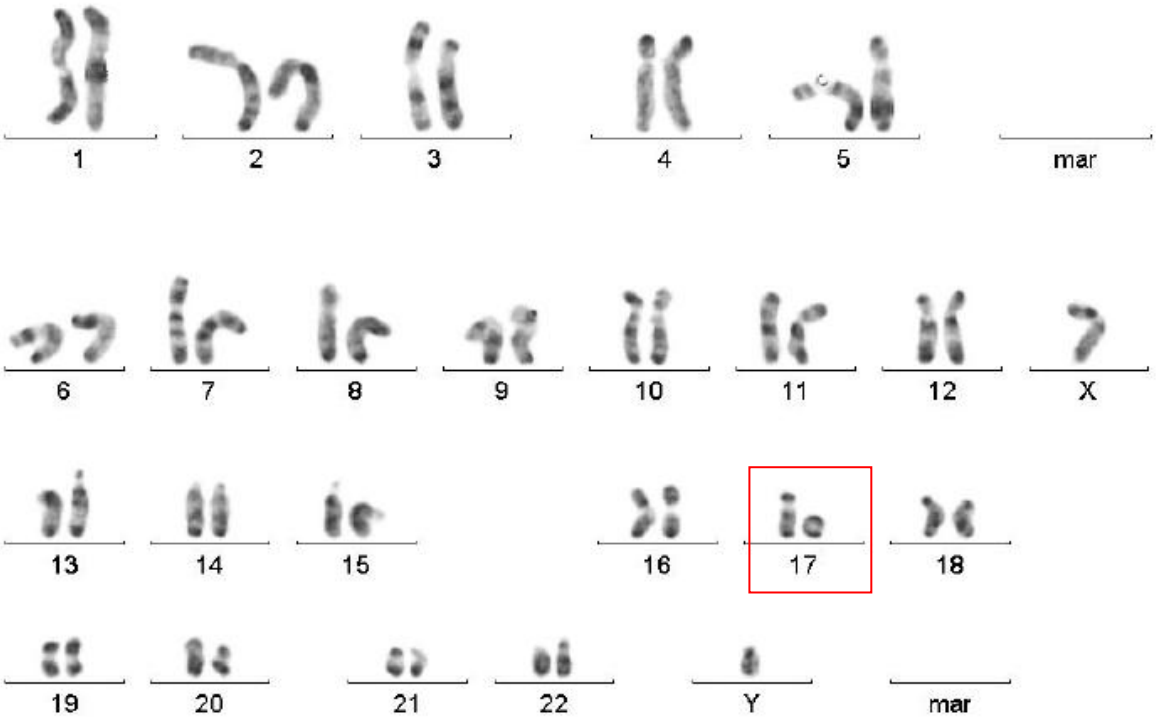


Figure 17. Carytoype conventionnel avec del(17p)

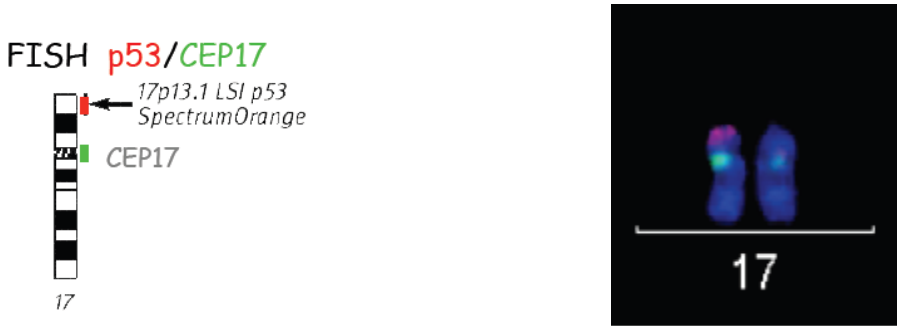


Figure 18. Représentation par FISH de la délétion p53

e. Délétion 6 q

Son incidence est évaluée à 6% environ (5,5% en CC et 6% en FISH). La délétion 6q est associée à une lymphocytose plus élevée, des adénopathies plus nombreuses mais il n'existe pas de différence en terme de survie par rapport aux LLC sans délétion 6q (82,90).

f. Synthèse

Il n'existe pas d'anomalies génétiques spécifiques de la LLC. Par contre certaines anomalies que nous avons énumérées plus haut sont récurrentes et de pronostic différent (figure 19).

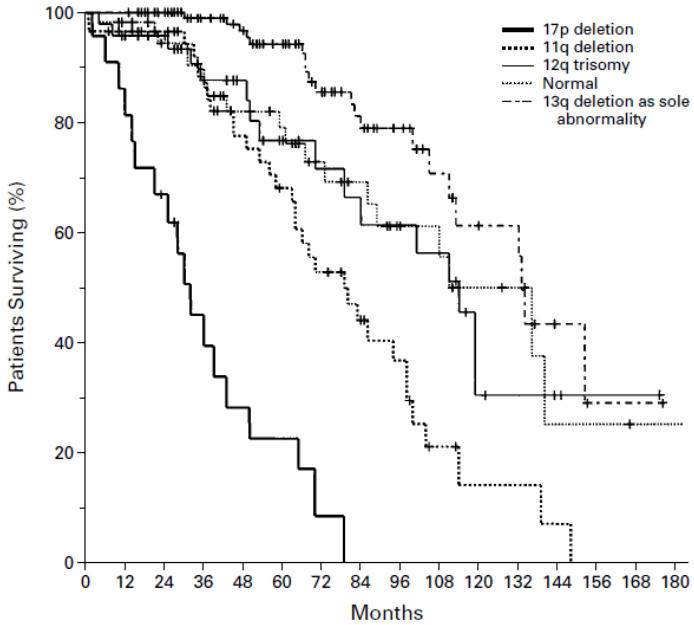


Figure 19. Représentation de la survie selon les anomalies génétiques retrouvées dans la LLC (82)

5. Autres facteurs pronostiques

Divers autres facteurs pronostiques corrélés au statut mutationnel ont été proposés mais avant de les utiliser en pratique clinique ils nécessitent d'être validés par des travaux complémentaires sur des plus larges séries de patients et dans le cadre d'études prospectives.

- L'expression de la sous-unité catalytique de la télomérase (hTERT), déterminée par RT-PCR quantitative, permettrait de discriminer les LLC mutées des LLC non mutées dans 89%. Le niveau d'expression d'hTERT est plus important avec un stade avancé de la maladie (91),
- Une relation directe entre le niveau plasmatique de la thrombopoïétine (TPO) et les autres marqueurs pronostiques (β2-microglobuline, stade de Rai, gènes des IgVH) a été récemment rapportée (92),
- Un niveau sérique élevé de VEGF (vascular endothelial growth factor), déterminé par Elisa, serait prédictif du risque de progression des formes précoces de LLC. Il existe une corrélation positive entre le niveau de VEGF circulant et l'expression de ZAP-70, l'expression de CD38 et le statut mutationnel des IgVH (93),
- Une étude du profil d'expression de microRNA (petits ARN non codants de 19 à 24 nucléotides qui régulent l'expression des protéines cibles en empêchant la traduction et/ou en provoquant la dégradation de leur ARN messager) a montré une signature unique composée de 13 gènes sur 190 analysés. Cette signature est associée à la présence ou à l'absence de progression de la LLC et permet de différencier les patients exprimant ou n'exprimant pas ZAP-70, ainsi que les patients mutés ou non mutés (94),
- Il a été mis en évidence récemment que l'expression du gène antiapoptotique myeloïd-cell-leukemia-1 (MCL-1), évaluée par RT-PCR quantitative en temps réel, est un indicateur du pronostic pour les patients tous stades confondus (même en stade A), les patients exprimant faiblement MCL-1 constituant un groupe de patients dont la survie globale est prolongée. L'expression de MCL-1 est également prédictive de la survie sans traitement des patients en stade A (95).

D. Conclusion

La grande hétérogénéité clinique caractéristique de la LLC a justifié depuis des décennies la détermination de nombreux marqueurs pronostiques. Malgré l'avènement de nouveaux marqueurs de plus en plus spécifiques, conclure sur le bilan pronostique de la LLC s'avère d'une grande complexité à l'heure actuelle. De nouvelles études multivariées doivent voir le jour pour étudier la valeur pronostique indépendante de chaque marqueur donné. Mais une vision schématique peut être proposée ci-dessous (figure 20).

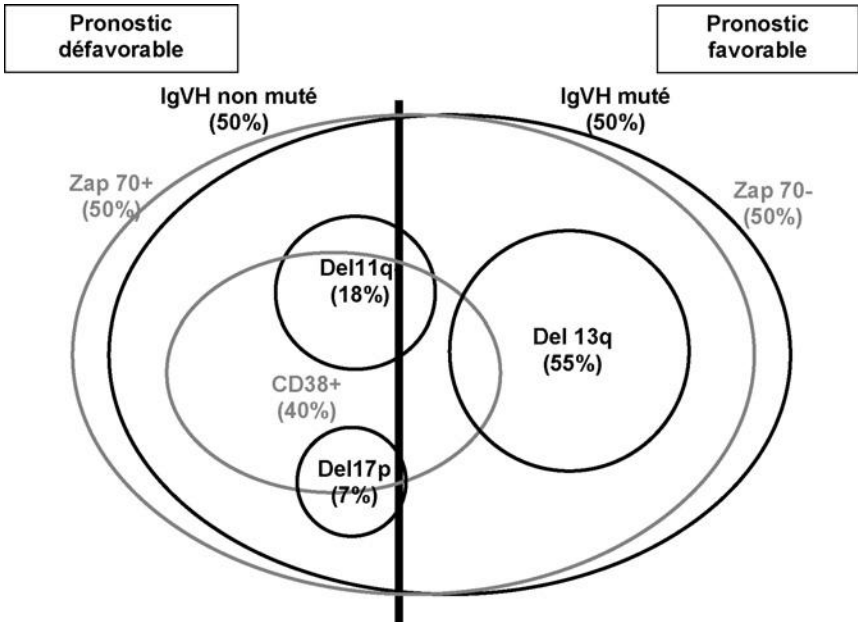


Figure 20. Schéma de l'incidence des nouveaux facteurs pronostiques **(96)**

XI. Diagnostics différentiels

Le diagnostic de LLC est aisé lorsque la cytologie et l'immunophénotypage sont typiques. Il existe certaines formes à la cytologie atypique correspondant aux LLC « atypiques » et d'autres hémopathies lymphoïdes B qui disséminent dans le sang et qui peuvent mimer une LLC (97).

A. Les LLC "atypiques"

Il existe des variants morphologiques de la LLC dite "classique" dès le diagnostic ou bien au cours de l'évolution de la maladie. Comme nous l'avons évoqué précédemment l'aspect cytologique de la LLC correspond à de petits lymphocytes d'allure mature avec une chromatine dense sans nucléole avec peu de cytoplasme (rapport NC<0.9).

Il existe des variants avec :

- La LLC mixte (15% des cas) constituée de petits et grands lymphocytes (cytoplasme abondant) ou essentiellement de grands lymphocytes
- La LLC atypique (20% des cas) correspond à une LLC mixte mais on trouve une irrégularité du contour nucléaire dans plus de 15% des cellules (encoche profonde ou clivé) (LLC pléimorphe)
- La LLC prolymphocytaire ou prolymphocytoïde où le nombre de prolymphocytes est compris entre 10 et 55% (si il est supérieur à 55% on parle alors de leucémie à prolymphocytes)

Un cas de LLC associée à une leucémie T à grands lymphocytes à grains (LGL) a été décrit par l'équipe Nancéienne de JF Leseve (98). Cette pathologie peut accompagner certaines hémopathies malignes B comme la MGUS, le lymphome folliculaire, la LLC (99).

B. La phase leucémique des lymphomes B à petites cellules

On retrouve essentiellement 3 entités : le lymphome folliculaire, le lymphome du manteau et le lymphome de la zone marginale.

1. Le lymphome folliculaire

Il représente 25% des lymphomes malins B non hodgkiniens. La cellule tumorale provient du centre du follicule. C'est un lymphome d'évolution souvent ganglionnaire lente sur plusieurs années. Il existe un envahissement dans le sang dans seulement 10 à 20% des cas (mais quelques fois de manière franche), par contre l'envahissement médullaire est quasi constant. Il s'agit de petites cellules rondes de la taille d'une hématie, avec un noyau sans nucléole à la chromatine dense, il existe une encoche nucléaire étroite et profonde évoquant une forme en grains de café. L'immunophénotypage permet le diagnostic différentiel avec la LLC dans les formes douteuses avec un score de Matutes < ou= à 2. Le CD5 et le CD23 sont absents et l'IgS est exprimé fortement. Le CD 10 est quant à lui positif de manière caractéristique.

2. Le lymphome de la zone du manteau

Il représente 15% des lymphomes B. Souvent diagnostiqué au stade IV avec atteinte fréquente des muqueuses (ORL, digestive), il présente une dissémination médullosanguine dans 1/3 des cas. Plusieurs aspects morphologiques peuvent être rencontrés. Les cellules peuvent avoir la taille d'un petit lymphocyte avec un noyau à la chromatine dense avec présence d'un sillon ou une encoche ou être de taille moyenne avec un noyau au contour irrégulier quelques fois d'aspect plurilobé avec chromatine plus fine et plus jeune sans nucléole et enfin avoir un aspect dit blastique avec cellules moyennes à grandes à la chromatine jeune évoquant celle des lymphoblastes. L'immunophénotypage montre des cellules $CD5^+$ mais $CD23^-$ et exprimant fortement l'IgS. Seule la forme rare dite "pseudo-LLC" pose un réel problème de diagnostic différentiel biologique.

3. Le lymphome lympho-plasmocytaire et la maladie de Waldenström

Ce lymphome dissémine rarement dans le sang. Les cellules en cause ont souvent un noyau latéralisé avec un cytoplasme plutôt basophile prenant un aspect pseudoplasmocytaire.

4. Le lymphome de la zone marginale

Les cellules peuvent apparaitre avec un aspect "villeux" sinon elles prennent un aspect "monocytoïde" avec cytoplasme abondant de couleur bleu gris. Le diagnostic différentiel peut être difficile avec parfois des formes $CD5^+$.

XII. Principes de traitement de la LLC

La LLC reste incurable à l'heure actuelle, le seul traitement permettant la guérison étant la greffe allogénique qui reste un traitement difficile et risqué. La stratégie thérapeutique traditionnellement adoptée pendant des années reposait sur le principe "*primum non nocere*". Cette approche était basée sur le fait que les patients appartenaient à une population relativement âgée qui devait vraisemblablement mourir d'une autre cause que la LLC (mourir "avec" et non "à cause"). En dehors des intensifications thérapeutiques, les progrès observés durant les 10 dernières années concernent essentiellement l'apparition de nouvelles molécules (comme les analogues des purines, les anticorps monoclonaux) et une meilleure caractérisation des patients à traiter en fonction des différents marqueurs pronostiques permettant l'élaboration de groupes de patients à haut risque de progression rapide et de décès suite aux complications de la maladie et ceux qui relèvent d'une simple surveillance. Un guide standardisé pour déterminer le moment approprié pour initier un traitement au moment de l'évolution clinique de la LLC a été définie par le National Cancer Institute sponsored Working Group (NCI-WG) (tableau XI) :

Présence de signes généraux
Perte de poids ≥ 10 % du poids du corps dans les six mois antérieurs
Asthénie intense (PS ≥ 2)
Fièvre depuis plus de deux semaines sans infection évidente
Sueurs nocturnes sans infection évidente
Insuffisance médullaire avec apparition ou aggravation d'une anémie ou d'une thrombopénie
Anémie ou thrombopénie auto-immune ne répondant pas à la corticothérapie
Splénomégalie massive (débord > 6 cm au dessous de l'auvent costal) ou progressive
Adénopathie(s) massive(s) (>10 cm) ou progressive(s)
Lymphocytose rapidement progressive : augmentation de plus de 50 % sur deux mois ou temps de doublement lymphocytaire estimé à inférieur à six mois
Une profonde hypogammaglobulinémie ou l'apparition d'un pic monoclonal ne représente pas un critère de mise en route d'un traitement en eux-mêmes.

Tableau 11. Critères de mise en route du traitement selon le NCI-WG. Au moins un des critères doit être présent (si présence de signes généraux, un des signes doit être présent à savoir : perte de poids ou asthénie ou fièvre ou sueurs)

L'évolution de la réponse repose traditionnellement sur les critères du NCI-WG. Depuis ces dernières années, l'évaluation de la maladie résiduelle (MRD) s'est imposée comme objectif majeur dans la prise en charge thérapeutique de la LLC. En effet, l'absence de détection de MRD est corrélée à la survie, alors que les approches morphologiques traditionnelles ne sont pas assez sensibles pour prédire une telle évolution. Cette notion sera développée plus loin. Il existe à l'heure actuelle un consensus pour que les patients en stade A qui représentent presque deux tiers de tous les patients ne soient pas traités en première intention devant l'absence de différence de survie entre un traitement par chlorambucil ou une simple surveillance chez des patients de stade A (100).

A. Moyens thérapeutiques actuels

1. Corticoïdes

Les corticoïdes peuvent être utilisés seuls, ils ont un effet anti-tumoral dans 40% des cas mais cet effet est de courte durée. Ils sont le plus souvent utilisés en association et font

partie de la majorité des protocoles de polychimiothérapie. Ils ont surtout un effet bénéfique sur l'état général du patient mais en contre partie, leurs utilisations augmentent le risque accru d'infections. Ils sont également utiles dans le traitement des complications auto-immunes de la maladie.

2. Alkylants

a. Le Chlorambucil (CLB)

C'est le premier agent alkylant connu depuis 1960 et le plus largement utilisé pendant de longues années. Son mode d'action consiste à ponter des guanines des chaînes d'ADN afin de former des liaisons covalentes fortes entre les brins. Souvent associé à des corticoïdes, il peut être administré en continu ou discontinu. La durée exacte du traitement n'est pas clairement établie ni la poursuite du traitement en cas de bonne réponse. Plusieurs essais dans les années 1990 ont été réalisés comparant Chlorambucil à une simple surveillance qui concluaient en une absence de différence en terme de survie globale pour des patients en stade A de Binet ou 0-I de Rai (100–102). Le groupe français a réalisé deux essais thérapeutiques randomisés incluant 1535 patients, comparant une attitude d'abstention thérapeutique à un traitement par Chlorambucil (CLB) en continu (protocole LLC-80) ou à une association CLB et prednisone (PRD) en discontinu (LLC-85). Les résultats obtenus ont montré que ni le CLB en continu ni l'association CLB/PRD n'allongeaient la survie par rapport à l'abstention thérapeutique (figure 21) (102).

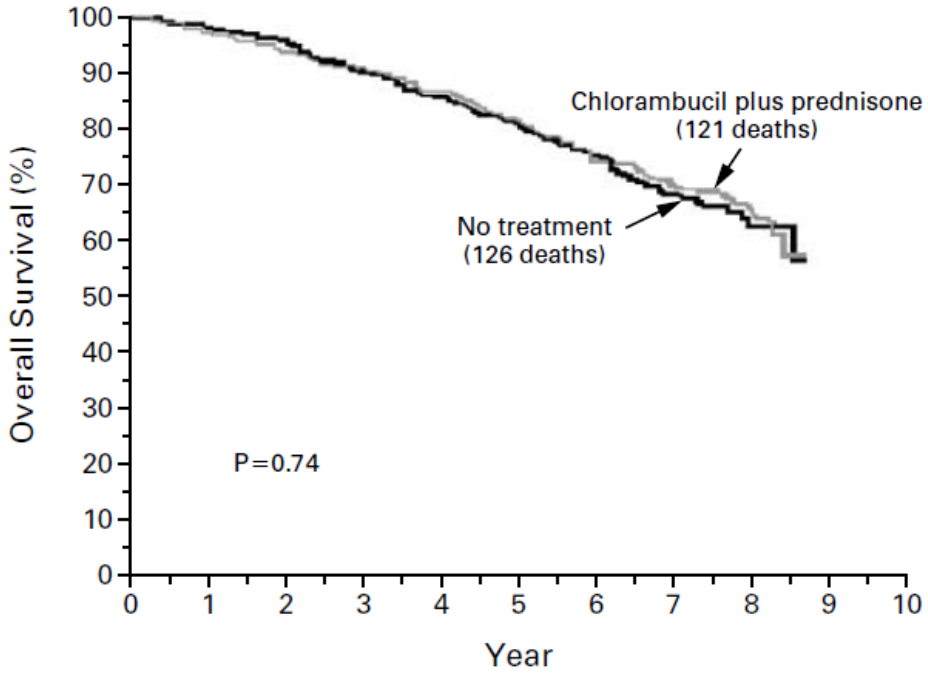


Figure 21. Représentation de la survie globale entre les patients ne recevant pas de traitement et ceux recevant chlorambucil et prednisone. Pas de différence significative (p=0,74) **(102)**

b. Le Cyclophosphamide

Utilisé seul, son efficacité se rapproche de celle du Chlorambucil

c. La bendamustine

Cette vieille molécule est réapparue depuis quelques années dans le traitement de la LLC en rechute. Elle a l'avantage d'être active sur les cellules malignes là où les autres traitements alkylants sont inefficaces (103). Une étude prospective a comparé un traitement par de la bendamustine 100mg/m² pendant deux jours consécutifs *versus* chlorambucil 0,8mg/kg à J1 et J15. Le taux de rémission était respectivement de 59% et 26%. La PFS était de 18 mois avec la bendamustine contre 6 mois avec le chlorambucil (104). Il a été prouvé une activité synergique entre le rituximab et la bendamustine avec un taux de rémission de 67% chez des patients présentant une LLC réfractaire (105). La bendamustine fait maintenant partie de nombreux protocoles associant de l'immunothérapie (rutiximab, alemtumumab), analogues de purines. Il a été montré dans l'étude pivotale de 2009 qui comparait bendamustine à Chlorambucil qu'il y a avait 31% de RC dans le bras bendamustine

contre 2% dans le bras chlorambucil, que la PFS était 3 fois supérieure dans le bras bendamustine que dans le bras chlorambucil. Cette étude concernait des patients non préalablement traités. La bendamustine a eu l'AMM en première ligne chez les patients non éligibles à un traitement par analogues des purines en monothérapie toutes les quatres semaines.

3. Analogues des purines

L'arrivée des analogues des purines en particulier de la fludarabine dans les années 1990 a constitué une avancée majeure dans le traitement de la LLC. Après démonstration de son efficacité en traitement de deuxième ligne, plusieurs essais randomisés ont illustré l'efficacité en traitement de première ligne par rapport au chlorambucil seul ou associé à d'autres drogues.

a. La fludarabine (FDR)

La fludarabine est un analogue nucléosidique qui inhibe la DNA polymérase et la ribonucléotide reductase favorisant l'apoptose. C'est MJ Keating qui a développé l'utilisation de la FDR dans la LLC selon le schéma classique de 25mg/m² /j, 5 jours consécutifs par mois (37,106). Les taux de réponse sont de l'ordre de 55 % pour des patients préalablement traités et 80 % pour des patients non traités. Le temps médian de progression après arrêt du traitement est de 30 mois. L'intérêt des analogues des purines a été démontré au cours de plusieurs études randomisées dont celle de Rai (107). La tolérance est globalement meilleure que celle des schémas de polychimiothérapie, la myélosuppression semble identique au CHOP dans le protocole LLC-90, il n'y a pas d'alopécie et les troubles digestifs sont moindres. Il a été rapporté des infections opportunistes et complications auto-immunes avec la FDR mais en général chez des patients multitraités. Son association avec d'autres antimitotiques (anthracyclines, cytarabine ou CLB) permet une réponse supérieure mais pas de différence en terme de survie globale (108). Seule son association avec le cyclophosphamide semble intéressante avec une synergie démontrée entre ces deux molécules en terme de cytotoxicité avec amélioration significative du taux de rémission complète (24 *versus* 7%), du

taux de réponse globale (94 *versus* 83%) et de la survie sans progression en première ligne thérapeutique (109) (figure 22).

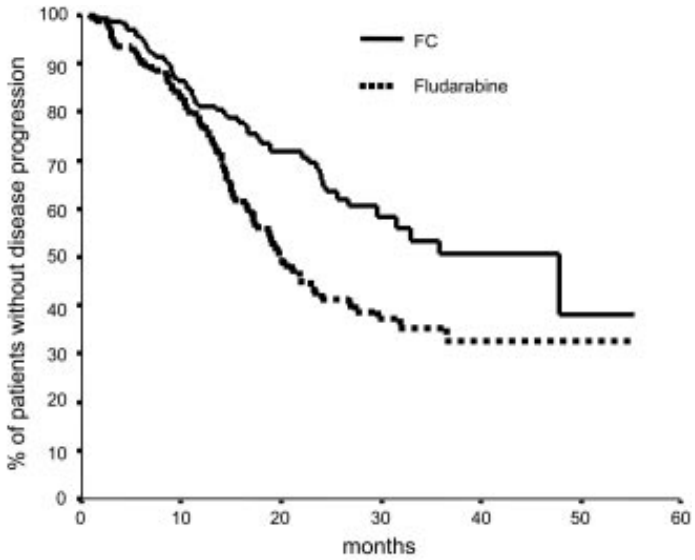


Figure 22. Représentation de la PFS entre des patients traités par fludarabine seule versus association fludarabine/cyclophosphamide (p=0,001) (109).

Les premières données suggéraient un bénéfice de qualité de la durée de réponse non seulement chez les patients en première ligne thérapeutique mais aussi chez les patients déjà traités voire réfractaires à la fludarabine (110).

b. Le LMP-420

Une nouvelle molécule le LMP-420 a été étudiée *in vitro* sur les cellules de patients atteints de LLC. Cet agent aurait un effet anti-inflammatoire, il empêcherait la production de TNF par les cellules sanguines mononuclées en conservant la viabilité cellulaire (molécule anti-TNF). Il n'aurait pas d'effet apoptotique sur les lymphocytes B et T normaux même à forte dose ce qui semble prometteur avec action spécifique sur les cellules tumorales sans toxicité sur les cellules normales, mais cela reste à être démontré *in vivo* (111).

4. Association de chimiothérapie

Diverses associations ont été proposées telles COP, MOP, CHOP,…

Dans le cadre d'études randomisées le COP a été fréquemment comparé au CLB et il a été établi qu'il n'apportait pas de bénéfice supplémentaire (51,112). Par contre, l'utilisation des anthracyclines dans la LLC a fait l'objet de controverses. Dans le protocole LLC-80 le COP a été comparé au mini CHOP chez 70 patients de stade C. La survie médiane était de 22 mois pour le COP et de 62 pour le CHOP (113). De nombreux schémas à base d'anthracyclines ont alors été testés (COP vs CLB ; CHOP vs CLB+PRD) et ont montré un bénéfice en terme de réponse mais aucun en terme de survie (51,114).

5. Immunothérapies

a. L'alemtuzumab

L'alemtuzumab est l'anticorps monoclonal le plus utilisé dans la LLC. Cet anticorps monoclonal IgG1 humanisé non conjugué reconnaît le CD52, récepteur exprimé sur les lymphocytes B et T normaux et leucémiques, les macrophages et les monocytes. L'alemtuzumab, actif en monothérapie, représente le seul anticorps officiellement approuvé en France dans le traitement de la LLC, son efficacité en monothérapie a été mise en évidence par l'étude pivot CAM211 rapporté par Keating qui retrouvait sur une population de 93 patients présentant une LLC réfractaire ou en rechute après fludarabine 33% de réponse globale durant une médiane de 9,5 mois (115). L'intérêt reconnu de cette molécule réside dans son efficacité chez les malades résistants ou réfractaires aux analogues de purines, c'est-à-dire ne répondant pas ou rechutant dans les six mois après traitement par fludarabine. Le traitement par alemtuzumab est d'autant plus efficace que le nombre de lignes de traitements antérieurs a été faible. Pour cette raison il paraît pertinent d'utiliser l'alemtuzumab en traitement de consolidation afin de diminuer la MRD. Une étude menée par O'Brien retrouve 38% de rémissions moléculaires et 86% de réponses médullaires après une consolidation par alemtuzumab pendant 4 semaines (116). L'alemtuzumab a aussi été proposé en première ligne thérapeutique : l'équipe de Lundin a rapporté un taux de réponse de 87% dont 19% de RC sur une série de 41 patients traités par cet anticorps en sous-cutané jusqu'à 18 semaines (117). Concernant sa toxicité, l'administration par voie sous-cutanée

aurait l'intérêt de diminuer la toxicité générale (toxicité hématopoïétique et immunitaire avec immunodépression sévère). Une étude de phase III (CAM307) a comparé l'utilisation de l'alemtuzumab versus le chlorambucil chez des patients en première ligne présentant une maladie progressive (118). Le taux de réponse globale, la réponse complète et la survie sans progression étaient supérieurs dans le bras alemtuzumab avec respectivement 83%, 24% et 14,6 mois *versus* 55%, 2% et 11,7 mois avec cependant plus d'effets indésirables dans le bras alemtuzumab avec davantage de neutropénie fébrile et d'infections ou réactivation de CMV.

Une prophylaxie par sulfaméthoxazole/triméthoprime et valaciclovir doit être systématiquement instaurée dès le début du traitement et poursuivie environ quatre mois après la fin de récupération d'un taux de lymphocytes CD4 supérieur à 200/mm^3. Les perspectives d'utilisation de l'alemtuzumab commencent à s'élargir avec notamment le protocole du groupe français GCFLLC/MW/GOELAMS qui vise à évaluer l'intérêt de l'association alemtuzumab/FC par rapport au traitement de référence RFC.

b. Le rituximab

Le rituximab est un anticorps monoclonal chimérique dirigé contre le CD20 humain qui est exprimé à la surface des lymphocytes B normaux ou malins. Son mode d'action repose principalement sur le déclenchement de la cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC) mais également sur l'activation du complément et une induction directe de l'apoptose. En monothérapie à posologie conventionnelle, il est peu efficace avec des taux de réponse partielle de moins de 15% chez des patients déjà traités (110,119).

C'est en association à la chimiothérapie que le rituximab a montré son efficacité. L'association fludarabine/rituximab a une action synergique et a permis par rapport à la fludarabine en monothérapie d'augmenter les taux de réponse complète (38 versus 20%), de survie sans progression (67 versus 45%) et surtout de survie globale (93 versus 81%) à deux ans (120).

Enfin, l'association rituximab/fludarabine cyclophosphamide (RFC) a donné les meilleurs résultats thérapeutiques ce qui en fait le gold standard à l'heure actuelle dans le traitement de première ligne de la LLC. L'équipe allemande du GCLLSG a montré dans une étude

randomisée de phase III une PFS supérieure dans le bras FCR vs FC (52 mois *versus* 33 mois) ainsi qu'une meilleure CR (44% *versus* 22%) (121). Dans une autre étude, le taux de réponse complète est de 70% et la réponse globale de 95% ; la survie globale sans progression à quatre ans est estimée à 69% (122). Le principal effet secondaire du rituximab est la réaction de type allergique à l'injection due au relarguage des cytokines (fièvre, frissons, hypotension, nausées) (123). Cette réaction est surtout fréquente lors de la première injection et peut être limitée par l'administration d'antihistaminiques et corticoïdes et par l'adaptation de la posologie.

c. L'ofatumumab

L'ofatumumab est un nouvel anticorps monoclonal humain de type IgG1 anti CD20 que se lie spécifiquement à un épitope distinct, différent de celui du rituximab, incluant à la fois la petite et la grande boucle extracellulaire de l'antigène CD20. La liaison de l'ofatumumab à l'épitope membranaire proximale de la petite boucle de l'antigène CD20 induit le recrutement et l'activation du complément à la surface de la cellule pouvant conduire à une cytotoxicité dépendante du complément provoquant la lyse des cellules cancéreuses. Dans une étude internationale de phase II publiée dans JCO de 2010, l'équipe de Wierda a montré chez 138 patients atteints de LLC doublement résistante (à la fludarabine et à l'alemtuzumab) une réponse globale de 47 à 58% avec survie jusqu'à progression de 5,7 à 5 ,9 mois et survie globale de 13.7 à 15.4 mois (124). Cette molécule a été globalement bien tolérée, quelques infections ont été reportées néanmoins (25%). D'autres études sont à l'heure actuelle encore en cours mais ces résultats montrent une efficacité de cette molécule chez les patients porteurs d'une LLC réfractaire à la fludarabine et à l'alemtuzumab, avec des options thérapeutiques limitées. Il peut être utilisé en association avec du mini CHOP.

d. Le GA101

Le GA101 (RO5072759) est un nouvel anticorps monoclonal humain de type IgG1 qui à l'heure actuelle fait l'objet d'études de phase I et II (125,126). Les premiers résultats sont

encourageants avec un taux de réponse de 55% chez des patients lourdement pré-traités, résistants au rituximab. L'étude CLL11 actuellement ouverte compare chez des patients âgés, en première ligne non éligibles à un traitement par fludarabine CLB vs CLB+RTX vs CLB+ GA101.

6. Intensification thérapeutique

Malgré les avancées thérapeutiques majeures de ces dernières années, la LLC demeure néanmoins une pathologie incurable : seule la greffe allogénique a permis d'obtenir des rémissions moléculaires prolongées notamment en cas de maladie réfractaire.

Trois raisons principales ont conduit depuis une dizaine d'années à proposer dans la LLC des essais d'intensification thérapeutique suivis d'autogreffe ou d'allogreffe de CSH :

- Cette maladie reste pour l'instant incurable,
- Des progrès dans la réanimation hématologique permettent d'envisager ces traitements jusqu'à un âge de plus en plus avancé,
- Des traitements plus actifs sont apparus permettant d'obtenir une meilleure qualité de rémission prégreffe.

a. L'autogreffe

L'intensification suivie d'autogreffe est une méthode avec un taux de mortalité inférieure à 10%. Elle permet d'obtenir de bonnes rémissions complètes mais les courbes de survie ne montrent pas de plateau suggérant que la maladie ne peut être guérie par ce traitement (127). Cependant, dans une étude de cas appariés, il a été montré un bénéfice de survie après autogreffe par rapport à une chimiothérapie conventionnelle (128). De même, un essai prospectif randomisé réalisé pour le GOELAMS (LLC-98) a évalué l'intérêt d'une autogreffe de cellules souches en intensification après une chimiothérapie initiale par trois cures de CHOP (129). Les bons répondeurs étaient ensuite randomisés entre autogreffe ou trois cures supplémentaires de CHOP. Les patients non répondeurs recevaient six cures de fludarabine puis l'autogreffe était effectuée à l'issu de ce traitement. Les résultats finaux ont

été publiés récemment : la survie sans progression était en faveur du bras autogreffe *versus* chimiothérapie conventionnelle (53 vs 22 mois), la mortalité liée au traitement était faible (<5%) mais la survie globale était de 104,7 mois dans le bras chimiothérapie standard contre 107,4 mois pour le bras autogreffe. Cette étude montre un impact majeur de l'autogreffe sur la PFS mais n'a pas montré d'avantage en terme de médiane de survie.

Une autre étude de M. Michallet en 2011 a comparé l'autogreffe (après conditionnement myéloablatif par BEAM ou ICT/ENDOXAN) à une simple surveillance chez des patients en première ou deuxième rémission complète. La PFS était supérieure dans le bras autogreffe (51 mois) contre 24 mois dans le bras surveillance (130)
Le problème essentiel de l'autogreffe est la constitution du greffon autologue. Il est nécessaire avant d'envisager un prélèvement de Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH) d'obtenir une rémission maximale sanguine et médullaire. Les patients reçoivent souvent des combinaisons de chimiothérapie ou des anticorps pour obtenir une rémission complète ce qui entraîne un déficit immunitaire profond et une myélosuppression importante qui rend difficile le prélèvement de CSH.

b L'allogreffe

L'allogreffe de moelle est à ce jour le seul traitement curateur de la LLC, elle a permis d'obtenir des rémissions moléculaires persistantes permettant de parler de guérison (131). Pourtant les transplantations allogéniques sont greffées d'une mortalité importante (jusqu'à 50%). Le taux de rechute est moins important que dans l'autogreffe suggérant un effet "greffon contre leucémie". Une étude rétrospective portant sur 691 patients greffés (482 autogreffes et 209 allogreffes) a montré un taux de RC de 78% dans les deux types de greffes avec une survie globale à 3 ans de respectivement 79% après autogreffe et 55% après allogreffe (127), toutefois le taux de rechute persiste après autogreffe passant de 20% à 20 mois à 60% à 60 mois alors qu'il n'y a pas d'augmentation du risque de rechute avec le temps pour les allogreffes avec un plateau constaté au-delà de 24 mois. En 1996 une étude a porté sur 54 patients porteurs de LLC ayant bénéficié d'une allogreffe géno-identique (132). Au moment de la publication en 1996, 31 patients étaient décédés après greffe et 23 étaients vivants. La survie à 3 ans était de 46%. Cette étude a été réactualisée avec un suivi

médian de 10 ans : parmi les 23 patients en vie et en RC en 1996, 19 (83%) étaient encore en vie en 2004. Ce suivi montre la réalité d'une curabilité de la maladie grâce à l'allogreffe, le problème essentiel étant la mortalité liée à la greffe. En effet, le bénéfice attendu a été longtemps effacé par les taux de mortalité lié au traitement (TRM) de l'ordre de 50% induits par les conditionnements myéloablatifs. L'utilisation par la suite des conditionnements dits "atténués" (RIC) a permis de réduire considérablement le TRM à 20% (131). Ce type de conditionnement permet d'envisager une allogreffe jusqu'à l'âge de 65 ans et même chez des patients ayant reçu une autogreffe précédemment y compris avec irradiation corporelle totale (133). La survie sans maladie à long terme peut être envisagée chez un tiers à deux tiers des patients atteints d'une maladie de pronostic défavorable (134). Mais la toxicité de ce traitement reste majeure et cette procédure doit être réservée aux patients de mauvais pronostic c'est-à-dire présentant une maladie réfractaire à la fludarabine responsable d'une durée de rémission courte et un taux de survie à 4 ans inférieure à 20%. D'autres critères cliniques entrent en ligne de compte :

- la nécessité de mise en route d'un traitement dans les 12 mois suivant le diagnostic,
- une réponse incomplète au traitement de première ligne comportant des analogues des purines,
- une évolution de la maladie dans les 24 mois suivant une chimiothérapie intensive avec consolidation par autogreffe.

Enfin la présence d'une délétion 17p (p53) représente comme nous l'avons vu précédemment un indicateur d'évolution défavorable.

Ainsi il semble logique et raisonnable de proposer une allogreffe dans les situations suivantes (134) :

1- en cas de non réponse à la fludarabine ou en cas de rechute précoce (dans les 12 mois),

2- en cas de rechute dans les 24 mois après association d'immunochimiothérapie ou après autogreffe,

3- avec présence d'une délétion 17p avec critères de mise en route d'un traitement.

Il faut savoir proposer l'allogreffe de façon rapide en cas de maladie de pronostic défavorable afin d'éviter l'accumulation des thérapeutiques cytotoxiques qui viendraient rendre la greffe plus toxique qu'elle ne l'est déjà.

B. Nouveaux outils thérapeutiques

1. Les molécules pro-apoptotiques

Les molécules antiapoptotiques de la famille Bcl-2 sont surexprimées dans la LLC et constituent donc de bonnes cibles thérapeutiques potentielles. Il existe à l'heure actuelle des essais thérapeutiques de phase I/II sur l'Oblimersen, un oligonucléotide antisens dirigé contre Bcl-2 (135).

2. Les molécules antiangiogéniques

Les cellules de la LLC expriment les trois récepteurs VEGF et il semble que le VEGF soit un facteur de croissance autocrine de ces cellules. Plusieurs inhibiteurs du VEGF sont actuellement essayés c'est le cas de la thalidomide et du lénalidomide. Ces molécules sont actives par leurs effets antiangiogéniques et anti-IL6. De nombreux articles ont été publiés sur ces molécules et sur leur efficacité dans la LLC (136,137). Une étude de phase II a montré des résultats prometteurs chez des patients recevant du lenalidomide alors qu'ils avaient été préalablement traités. Le taux global de répondeurs était de 72% dont 15% de réponse complète (138). Une autre étude de phase II réalisée sur des patients de plus de 65 ans qui recevaient du lénalidomide en monothérapie a montré aussi des premiers résultats encourageants puisque la survie sans progression à 2 ans était estimée à 60%, 65% des patients répondaient et il y avait 10 % de rémission complète, 5 % de RC avec cytopénie et 43% de réponses partielles avec une bonne tolérance du traitement (139). Dans un article récent publié dans Blood en septembre 2011, les auteurs reviennent sur les traitements peu toxiques de la LLC adaptés aux patients âgés avec comorbidités comme le Chlorambucil qui ne donne pas des résultats très convaincants et le lénalidomide qui montre une amélioration

de la survie certes longue à obtenir mais qui dure (140). La cible intracellulaire du lénalidomide est la voie de signalisation PI3K qui active les facteurs de transcription NFKB et NFAT dont l'une des cibles des cellules de LLC est le CD154 (ligand du CD40). Le CD154 joue un rôle important dans la pathogénie de la maladie puisque la présentation du CD154 à la surface de la cellule leucémique réactive les cellules B et T ce qui entraîne l'augmentation de production des Ig par la population résiduelle de cellules B normales (figure 23).

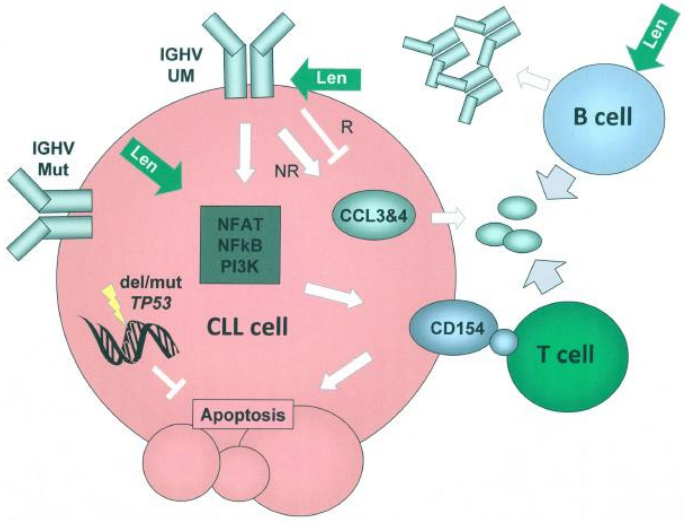


Figure 23. Effet du lénalidomide (len) *in vivo* sur la cellule de LLC (140).

3. Thérapie par des Lymphocytes T génétiquement modifiés

Les lymphocytes T sont des acteurs majeurs du microenvironnement ; les méthodes de stimulation et d'amplification des lymphocytes T font partie des nouvelles voies thérapeutiques. L'injection de cellules T autologues manipulées génétiquement (appelées T CART 19) à un patient avec une LLC réfractaire aux traitements conventionnels a été réalisée dans une étude de Porter et *al* (141). Ces cellules T autologues sont prélevées puis manipulées génétiquement *in vitro* avec un lentivirus exprimant un anticorps chimérique de troisième génération. Après injection de ces cellules, les patients ont présenté un syndrome de lyse tumorale, une activation immune avec libération de cytokines inflammatoires, une rémission complète de plus de un an pour deux des trois patients et l'autre a obtenu une rémission au bout de quatre mois. Ces résultats sont encourageants et doivent être confirmés par d'autres études.

4. Le Flavopiridol

Cette molécule fait son entrée récente dans le traitement de la LLC. C'est un inhibiteur des cyclines dependantes kinases qui entraîne un arrêt du cycle cellulaire et une apoptose en diminuant l'expression des molécules anti-apoptotiques comme Mcl-1. Plusieurs études ont montré son efficacité notamment dans les LLC en rechute ou lourdement pré-traitées avec carytoype complexe (142,143).

5. La vitamine D

Une étude récente dans Blood a montré que la carence en vitamine D est un facteur affectant négativement la survie des patients avec une LLC (144). L'équipe d'Arlet suggère chez un patient de 90 ans l'effet bénéfique d'une supplémentation en vitamine D. En effet, après traitement par vitamine D3 la lymphocytose sanguine aurait disparu à la semaine 9 du traitement et celle-ci serait réapparue 9 mois après correspondant à une récidive de la carence (145). D'autres études sont nécessaires à plus grande envergure pour mériter confirmation.

C. Notion de MRD

La recherche de la maladie résiduelle est la recherche de la persistance ou de la réapparition des cellules pathologiques après un traitement. Plusieurs techniques peuvent être utilisées : par biologie moléculaire ou par CMF. Il existe une évolution importante dans la prise en charge globale de la LLC depuis 30 ans avec l'apparition de traitements de plus en plus efficaces. Ainsi il est important de passer du terme de rémission clinique à celui de rémission immunophénotypique. En effet chez les patients en rémission complète, la présence d'une MRD négative est associée à une survie plus importante qu'en cas de MRD positive. L'avantage de connaitre la MRD sur le sang et la moelle a un intérêt sur la durée de la réponse et la survie globale. En cas de MRD qui devient positive la progression sera plus rapide. L'équipe allemande dans un article récent publié dans JCO a étudié la MRD par CMF

de 60,8% de patients inclus dans CLL8 comparant FC à FCR (146). Cette étude montre des résultats importants à savoir que la MRD est significativement supérieure (10 fois) entre les bras FC et FCR, l'OS est de 48,4 mois chez les patients avec une MRD élévée mais n'est pas encore atteinte chez les patients avec une MRD moins élévée, la PFS est estimée à 68,7, 40,5 et 15,4 mois chez les patients avec une MRD basse, intermédiaire et élevée. L'analyse multivariée montre que la MRD reste un facteur indépendant permettant de prévoir la PFS et l'OS (ces deux éléments étant identiques dans le bras FC et FCR).Cette étude suggère l'intérêt d'une étude de la MRD comme objectif principal des futures études. Pour le moment cette recherche de MRD n'est réalisable que dans le cadre de protocoles. Effectivement, la rémission immunophénotypique reste très variable en fonction de la technique de détection (avec une sensibilité différente) et en fonction du traitement antérieur (chimiothérapie, immunochimiothérapie, greffe allogénique). Elle semble néanmoins avoir un intérêt en routine en post-allogreffe pour les patients en RC pour envisager des DLI en cas de MRD positive.

Conclusion

La LLC est la leucémie la plus fréquente en occident. Elle touche les patients de plus de 50 ans. Son incidence augmente avec l'âge. Le diagnostic est simple et se fait sur la cytologie et l'immunophénotypage qui sont typiques en particulier la double positivité CD19 CD5 que nous allons étudier dans les deux autres parties de ce travail. La majorité des patients sont diagnostiqués au stade A avec une évolution hétérogène dans le temps. Elle reste à l'heure actuelle une hémopathie incurable mais de nombreux progrès au niveau thérapeutique ont permis d'améliorer considérablement la survie des patients notamment depuis l'utilisation des analogues des purines et l'association d'une immunopolychimiothérapie. Le seul traitement qui reste curable est la greffe allogénique avec toute la toxicité qu'on lui connaît.
La LLC est une maladie d'évolution clinique très variable depuis une maladie indolente compatible avec une espérance de vie normale sans traitement jusqu'à une maladie mortelle en moins de trois ans quelque soit la chimiothérapie utilisée. Il est important de pouvoir connaître son évolution propre pour chaque patient afin de proposer aux malades

une thérapeutique adaptée individuelle en limitant les toxicités et en essayant de leur conserver une qualité de vie satisfaisante. Devant le vieillissement de la population, de nouvelles thérapeutiques adaptées doivent être utilisées en fonction de l'état général du patient et de ses comorbidités (notion récente de patient "fit" et "unfit"). De nombreux essais thérapeutiques sont en cours actuellement.

DEUXIEME PARTIE :

ROLE DE LA MOLECULE CD5 DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DE LA LEUCEMIE LYMPHOIDE CHRONIQUE

Origines de la LLC

I. Introduction

La LLC est une hémopathie de comportement clinique hétérogène caractérisée par l'accumulation progressive de cellules B monoclonales $CD5^+$ dans le sang, la moelle osseuse et les organes hématopoïétiques, bloquées en phase G0/G1 du cycle cellulaire (147). Depuis quelques années, des travaux ont montré que la LLC n'est pas une maladie statique résultant uniquement de la prolifération de petits lymphocytes B monoclonaux avec une durée de vie prolongée mais correspondrait plutôt à un processus dynamique constitué de cellules qui s'accumulent puis meurent assurant un renouvellement constant du clone leucémique (55). Cette accumulation proviendrait d'un défaut ou d'une altération de la mort cellulaire programmée de ces cellules *in vivo*. La LLC représente le prototype de tumeur dans laquelle le phénomène d'apoptose défectueux est prédominant. L'hyperlymphocytose sanguine provient de l'accumulation de lymphocytes matures bloqués en phase précoce du cycle cellulaire et avec durée de vie prolongée. L'accumulation de ces cellules malignes est un facteur pronostique reconnu avec le temps de doublement de lymphocytes considéré comme défavorable lorsqu'il est inférieur à 12 mois (54). Le microenvironnement joue un rôle essentiel dans le maintien de cette prolifération puisque les cellules de LLC qui résistent à l'apoptose *in vivo* meurent spontanément et rapidement *in vitro*. Cette observation signifie que les cellules de LLC ne sont pas capables de se maintenir en vie sans la présence de facteurs humoraux ou protéines du microenvironnement existant *in vivo* (148). Nous savons maintenant que pour une même maladie, l'évolution sera différente avec certains patients qui vont avoir une évolution bénigne ne nécessitant pas de traitement spécifique et d'autres qui vont présenter une forme agressive d'emblée relevant d'un traitement précoce. Ainsi il est important de se poser la question si la LLC est une maladie unique ou bien deux maladies distinctes.

II. Maladie unique ou maladies distinctes ?

A. Rappels sur les évènements survenant au cours de la lymphogénèse B

La différenciation B est séparée en deux phases principales (figure 24) :

- La première phase de différenciation et maturation est indépendante de l'Ag. Elle se déroule dans la moelle osseuse et aboutit à la génération de lymphocytes B immatures exprimant une IgS capable de reconnaître un Ag. C'est à ce moment qu'intervient le réarrangement V-(D)-J, réarrangement somatique au sein des gènes codant pour les chaînes lourdes et légères afin d'obtenir une grande diversité des Ig.

- La seconde phase d'activation et de différenciation finale est dépendante des Ag du soi puis du non-soi dans les organes lymphoïdes secondaires. Elle aboutit à la formation de plasmocytes et lymphocytes B mémoires spécifiques d'un Ag. Cette différenciation post-médullaire est caractérisée par la sélection périphérique après rencontre avec l'Ag. Puis les LB peuvent se différencier en plasmocytes à courte durée de vie ou former les centres germinatifs où ils subissent les processus d'hypermutation somatique (qui correspond à des mutations ponctuelles introduites dans la région variable ayant pour but la sélection des LB qui auront une meilleure affinité pour l'antigène) et de commutation de classe (permettant l'expression d'un autre isotype d'Ig suivant la réponse immunitaire voulue) avant de devenir des plamsocytes à longue durée de vie.

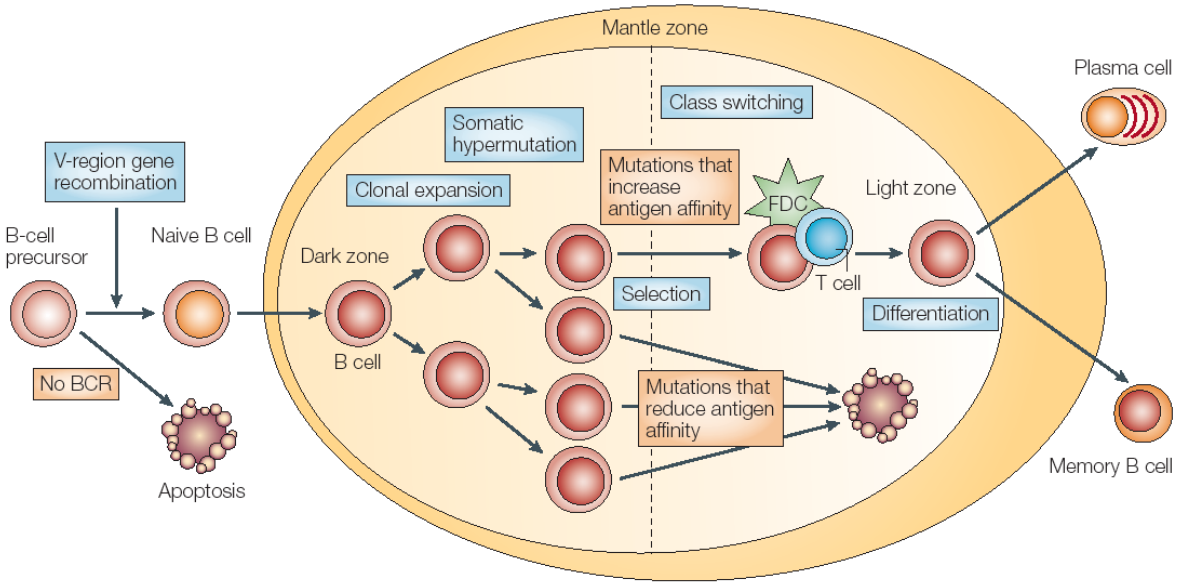


Figure 24. Etapes de la différenciation du lymphocyte B d'après **(149)**]

B. Quelques points sur le BCR

Le récepteur à l'antigène est très faiblement exprimé à la surface des lymphocytes B de la LLC, ce qui constitue l'une des principales caractéristiques de la maladie. Ce récepteur B est composé de l'IgM de surface assurant une interaction spécifique avec l'antigène, associéé à deux chaînes polypeptidiques Igα/Igβ groupées en hétérodimère (CD79a, b) qui jouent un rôle essentiel dans l'assemblage de ce récepteur et la transduction du signal après activation par l'antigène. Les régions intracytoplasmiques de l'hétérodimère Igα/Igβ contiennent un motif d'homologie ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based- activation*) constituées par des tyrosines et leucines appariées (figure 25). Ce motif est aussi présent dans plusieurs molécules du système immunitaire jouant un rôle dans la transduction du signal d'activation. La phosphorylation des tyrosines de ce motif par des tyrosines-kinases de la famille *Src* favorise son association avec des domaines SH2 présents dans la tyrosine-kinase *Syk*

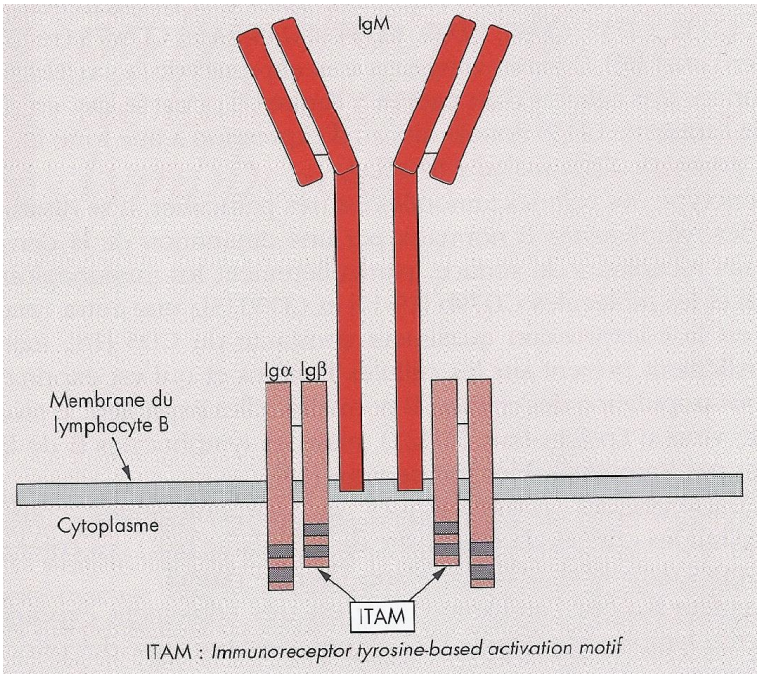


Figure 25. Représentation schématique du BCR

La signalisation par le BCR joue un rôle important dans les différentes étapes du développement du lymphocyte B. L'immunoglobuline de surface est composée de deux chaînes lourdes (H) identiques et deux chaînes légères (L) identiques. Chaque chaîne est constituée d'une région constante C et d'une région variable V. L'association des domaines variables des chaînes lourdes et légères définit le site de fixation à l'antigène. Pendant la différenciation et le développement des lymphocytes B normaux, le BCR va bénéficier d'une grande diversité en raison des réarrangements de ses gènes : les segments V, D, J pour les chaînes lourdes des Ig et les segments V et J pour les chaînes légères. Les mutations somatiques des régions variables des Ig résultent d'un processus d'affinement et de maturation de leur spécificité vis-à-vis de l'antigène. Ce mécanisme correspond à l'introduction au hasard de mutations ponctuelles dans les régions variables des gènes. Le développement des lymphocytes B est initié par un assemblage de gènes de la région variable des chaînes lourdes (VH) et légères (VL) des immunoglobulines chez les progéniteurs des lymphocytes B. Chaque cellule B génère une paire distincte de gènes pour les VH et VL. Les cellules B naïves ont procédé au réarrangement des gènes des immunoglobulines mais ne présentent pas de mutations somatiques contrairement aux lymphocytes B qui ont transité dans le centre germinatif qui présentent un taux élevé de mutations dans la région variable des gènes aboutissant à un lymphocyte B mémoire.

La stimulation du BCR se fait après pontage d'au moins deux BCR, facilité par la présence d'épitopes répétés sur l'antigène qui permet l'activation des molécules de signalisation CD79a et CD79b. Cette activation implique une phosphorylation qui s'effectue sur les résidus tyrosine présents sur les motifs ITAMs (immunoreceptor tyrosine-based-activation-motif) de la portion intracytoplasmique des molécules CD79 par des kinases associées au BCR (Blk, Fyn, Lyn, …). Des phopshatases (SHP-1 et SHIP) sont chargés de limiter cette signalisation. La phosphorylation favorise le recrutement en cascade de molécules de signalisation. Cette activation dépendante du BCR est modulée par des signaux indépendants du BCR qui permettent d'orienter le lymphocyte B soit vers une mort programmée ou apoptose soit vers la prolifération. L'apoptose concerne la sélection négative alors que la prolifération concerne la sélection positive. Le récepteur B à l'antigène (BCR) est très faiblement exprimé à la surface du lymphocyte B de la LLC ce qui constitue un des principales caractéristiques de la maladie. La stimulation antigénique en association avec la libération de cytokines joue un rôle dans la prolifération des cellules de la LLC et leur permet d'éviter l'apoptose. Les BCR des cellules des patients atteints de LLC sont de structure très proche, les antigènes les liant sont semblables et donc semblent liés à la pathogénèse de la maladie. Effectivement, longtemps considérés comme ontogéniquement immatures, incompétents au niveau fonctionnel, peu proliférants et s'accumulant par défaut d'apoptose, les lymphocytes B de LLC sont aujourd'hui reconnus comme des cellules ayant accompli un processus de maturation pouvant exprimer des compétences immunitaires dont le turn over lent dépend certes d'un défaut d'apoptose mais aussi de facteurs extracellulaires favorisant leur accumulation selon une dynamique active. Nicholas Chiorazzi a montré après analyse des clones leucémiques de LLC qu'il existait un nombre restreint de combinaison (les gènes VH les plus fréquemment exprimés étant VH 1-69, 3-07 et 4-34) (150) en sachant que les familles de gènes ne sont pas les mêmes dans les formes mutées et non mutées voire dans les formes à IgG ce qui suggère des biais de sélection distincts avec probablement une transformation à des stades différents de la lymphogénèse B. Ces données évoquent un processus de sélection clonale compatible avec une stimulation par un nombre restreint d'antigènes. Ces antigènes restent encore inconnus mais il pourrait s'agir de virus latents ou de bactéries commensales qui activent le BCR.

C. Conséquences

Nous savons maintenant que pour une même maladie, un tiers des patients suit une évolution bénigne ne nécessitant aucun traitement et meurt de causes non liées à la maladie, un second tiers poursuit une évolution paisible pendant plusieurs années et s'aggrave dans un deuxième temps, requiert un traitement anti-tumoral à ce moment et meurt fréquemment des causes liées à la maladie et le tiers restant se présente sous forme grave d'emblée, relève d'un traitement précoce et meurt des causes liées à la maladie.

Comme vu plus haut, le profil mutationnel des gènes des Ig a conduit plusieurs auteurs à se demander si la LLC constituait une maladie unique où les cellules subissent le même mécanisme de transformation ou deux maladies distinctes. Dans la LLC de bon pronostic les cellules des patients expriment des gènes des Ig mutés et correspondent à la prolifération d'une cellule B ayant été au préalable en contact avec l'antigène dans le centre germinatif. Dans la LLC de mauvais pronostic, la transformation survient dans une cellule B dite « naive » qui n'a pas encore rencontré d'antigène. Toutefois cette séparation en deux entités bien distinctes va à l'encontre des éléments qui plaident en faveur d'une maladie unique : la morphologie et le phénotype du lymphocyte B malin ne sont pas différents que les gènes des Ig soient mutés ou non mutés, les altérations de l'expression du BCR, la sur-expression de bcl-2 sont communs aux deux formes. Les cellules B de la LLC subiraient le même mécanisme de transformation ou tout du moins auraient en commun un mécanisme de transformation identique parmi celles nécessaires pour transformer une cellule normale en cellule maligne. Toutes les LLC « mutées » ou non proviendraient de cellules qui ont exprimé au départ des Ig autoréactives (151) mais ce ne sont pas les même familles VH et VL ce qui prouve que les cellules B sont transformées à deux stades bien différents du développement (152). Ainsi, les formes exprimant des gènes en conformation germinale pourraient correspondre à un stade de différenciation plus précoce au contraire des formes exprimant des gènes mutés. Des études récentes du profil des gènes exprimés par les lymphocytes B-LLC par la technique des puces à ADN (micro-arrays) sous-tendent l'idée que tous les cas de LLC soit auraient une origine commune soit suivraient un processus commun de transformation maligne (66,68). Effectivement les premiers travaux d'analyse par puce à ADN ont montré que les LLC ayant des gènes d'Ig mutés et non mutés avaient globalement la même signature transcriptionnelle la différenciant des autres hémopathies malignes.

Cependant ces deux fomes expriment un certain nombre de gènes différents suggérant l'existance d'au moins deux variants de la maladie.

Une étude allemande n'a montré cette différence que chez les hommes. Cette même étude a clairement montré que le profil génique était étroitement corrélé aux anomalies cytogénétiques : les gènes dérégulés étant souvent localisés sur les chromosomes impliqués par ces anomalies comme le chromosome 11 ou 17 (153).

Longtemps considérée comme une maladie homogène constituée de cellules B immatures immunocompétentes ayant une capacité de prolifération faible et qui s'accumulent donc par défaut d'apoptose, la leucémie lymphoïde chronique est maintenant décrite comme une maladie hétérogène constituée de lympocytes B stimulés par des antigènes qui ont échappé aux mécanismes normaux de mort cellulaire et s'accumulent en proliférant du à une activité aberrante de ZAP-70 (154). Cette hétérogénéité reflète la différence dans le statut mutationnel des Ig, l'expression de ZAP-70 et de CD38 et le profil d'expression des gènes. Lorsque les cas de LLC ont été divisés dans des catégories distinctes de par ces différences, de profondes disparités cliniques et pronostiques ont été révélées. Les patients avec des clones n'ayant pas ou peu de mutations des gènes des Ig, une expression importante de CD38 et ZAP-70 développent une maladie très agressive et rapidement fatale alors que les patients avec des clones ayant des gènes des Ig mutés et une expression faible de CD38 et ZAP-70 ont une maladie indolente. La stimulation antigénique (décrite plus loin) qui fait intervenir des cytokines et des cellules accessoires est un facteur favorisant la prolifération des cellules de LLC en leur permettant d'éviter l'apoptose. Ces évènements peuvent différer d'un sous groupe à l'autre expliquant une différence clinique importante.

D. Hypothèses physiopathologiques

Il y a maintenant quelques années a été mis en évidence l'existence d'une enzyme intervenant aussi bien chez l'homme que chez la souris dans le processus de mutation somatique des gènes des Ig et de commutation de classe. L'AID (activation-induced cytidine deaminase) est indispensable à ces deux événements majeurs de la différenciation terminale du LB. L'équipe de N. Chiorrazi a étudié par RT-PCR l'expression de l'AID chez 99 patients

avec une LLC et 30 individus normaux. L'AID était exprimé dans 39% des cas de LLC mais aucune expression n'a été trouvée chez les individus normaux.

Vingt trois pour cent des patients mutés et 60% des patients non mutés exprimaient l'AID avec une expression modifiée au cours du temps. *In vitro* l'expression de AID augmentait après stimulation des lymphocytes B purifiés de patients avec un profil muté ou non muté par IL4 et anti-CD40. L'induction de l'AID chez les patients avec une LLC pourrait donc être liée à un évenement d'activation qui pourrait expliquer la fréquence plus élevée d'expression de l'AID dans les LLC non mutées.(155).

L'expression de l'AID et le profil d'expression des gènes ont été explorés. Il semble que dans la LLC l'AID serait appariée avec la forme variante pour former un dimère non fonctionnel empêchant le processus de mutations dans les formes non mutées ou interrompant le processus dans les formes mutées. Ces données laissent suggérer très fortement que les formes mutées ou non de la LLC proviennent de cellules B mémoires post germinatives. Ces données sont en accord avec la présence de cellules non mutées capables de commutation de classe (ou "switch") décrite dans un article de Oppezzo paru dans Leukemia en 2002 qui posait la question de l'origine de la cellule B de LLC : cellule mémoire ou naïve?

Les LLC non mutées dites "naïves" sont IgD^+, $CD38^-$ et $CD27^-$ et les LLC mutées correspondraient à la prolifération de cellules post germinatives IgD^-, $CD38^-$ et $CD27^-$. Les cellules de LLC expriment à leur surface habituellement des IgM et IgD plus rarement des IgG ou des IgA ; elles ont la capacité de muter et de switcher mais gardent néanmoins le potentiel d'exprimer les IgD. Dans cette étude, 25 patients avec une LLC on été analysés : la séquence nucléotidique VH a été déterminée et la présence des différents transcrits recherchée. La présence d'un transcrit μ et δ a été identifiée dans tous les cas et de façon indépendante du statut mutationnel (12 LLC non mutées et 13 LLC mutées). De plus des transcrits γ ont été observés chez 11 patients et α dans cinq autres cas. Dans ces 16 derniers cas, une co-expression des transcrits μ et δ était présente. Cela suggère donc que les cellules B de LLC ne correspondent pas à des cellules naïves puisque il existe des gènes non mutés avec des cellules capables de "switch".

L'accumulation, la prolifération des lymphocytes et leur blocage en phase G0 qui définissent la lymphocytosepeuvent être expliqués par plusieurs mécanismes énumérés ci-dessous.

III. Défaut d'apoptose

Il existe dans la LLC une dérégulation de l'apoptose secondaire à des changements dans l'expression de nombreux régulateurs apoptotiques. On retrouve deux voies d'apoptose avec intervention des caspases qui sont les effecteurs clés de l'exécution de la cascade apoptotique (figure 26) :

- La voie intrinsèque est activée par de nombreux signaux tels que l'irradiation, le stress cellulaire. Elle implique la libération à partir de la mitochondrie via l'action de *Bax* qui va former un pore dans la paroi, de protéines comme le cytochrome c qui va s'unir à la protéine APAF 1, l'ensemble provoque l'activation de la caspase 9 puis la caspase effectrice (caspase 3) qui va engendrer les modifications morphologiques et biochimiques caractéristiques de l'apoptose.
- La voie extrinsèque est activée par des récepteurs de mort, appartenant à la famille de TNF présents à la surface cellulaire mais qui possèdent un domaine intracytoplasmique. Ces récepteurs dont le plus connu est *Fas* (CD95) déclenchent la voie des caspases qui va entraîner l'apoptose.

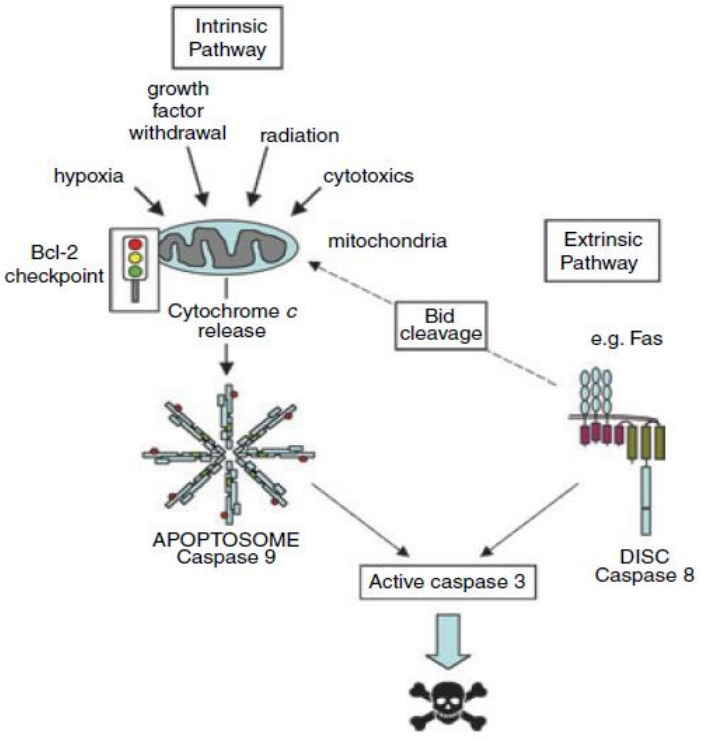


Figure 26. Schéma simplifié des deux voies apoptotiques **(156)**

La résistance à l'apoptose a été attribuée à une variété de facteurs dont l'expression anormale des protéines de la famille de Bcl-2 (157). Nous allons passer en revue les différents facteurs présents dans cette cascade apoptotique qui interviennent dans l'accumulation des cellules de LLC.

A. Molécules impliquées

1. Bcl-2

Les protéines de la famille de Bcl-2 jouent un rôle dans le contrôle de la fonction mitochondriale qui entre en compte dans la voie intrinsèque de l'apoptose. Une étude réalisée par Hanada et son équipe a montré une surexpression de la protéine anti-apoptotique Bcl-2 dans 90% des cellules leucémiques secondaire à une hypométhylation du promoteur du gène entrainant une plus grande transcription de la protéine (157). Il a été montré que les lymphocytes sanguins qui présentent un haut niveau d'expression de Bcl-2 présentent une translocation entre les chromosomes 14 et 18 comme celle retrouvée dans les lymphomes folliculaires ; or, dans 90% des cellules leucémiques de LLC il n'existe pas cette translocation. Contrairement aux lymphomes folliculaires, il n'est pas encore clair si la cellule leucémique de LLC acquiert ce phénomène de surexpression au cours de la leucémogénèse (secondaire à des signaux environnementaux qui lui seraient envoyés) ou si elle a son origine à partir de cellules hyperexprimant cette protéine (secondaires à des altérations génétiques des régulateurs de l'apoptose). Nous avons vu que lorsque les cellules leucémiques sont cultivées *in vitro* elles meurent très rapidement ce qui laisse penser que l'environnement joue un rôle non négligeable dans l'inhibition de l'apoptose (148).

La famille de protéines *Bcl*-2 contient aussi bien des molécules anti-apoptotiques comme *Bcl*-2, *Bcl*-x_L ou *Mcl*-1 que des molécules pro-apototiques (*Bax*, *Bad, Bak*) (158). *Bax* a la possibilité de former un hétérodimère avec *Bcl*-2. Quand *Bax* est surexprimée, elle accélère la mort cellulaire apoptotique et élimine l'effet protecteur conféré par l'hyperexpression de

Bcl-2. Le ratio molécules pro/antiapoptotiques via des intéractions mutuelles détermine le sort de la cellule. La variation individuelle du rapport *Bcl*-2/*Bax* est corrélée avec l'apoptose et l'évaluation clinique : une diminution de ce rapport est associée à une augmentation de la sensibilité aux drogues cytotoxiques *in vitro* et à une meilleure réponse des patients à la chimiothérapie (159,160).

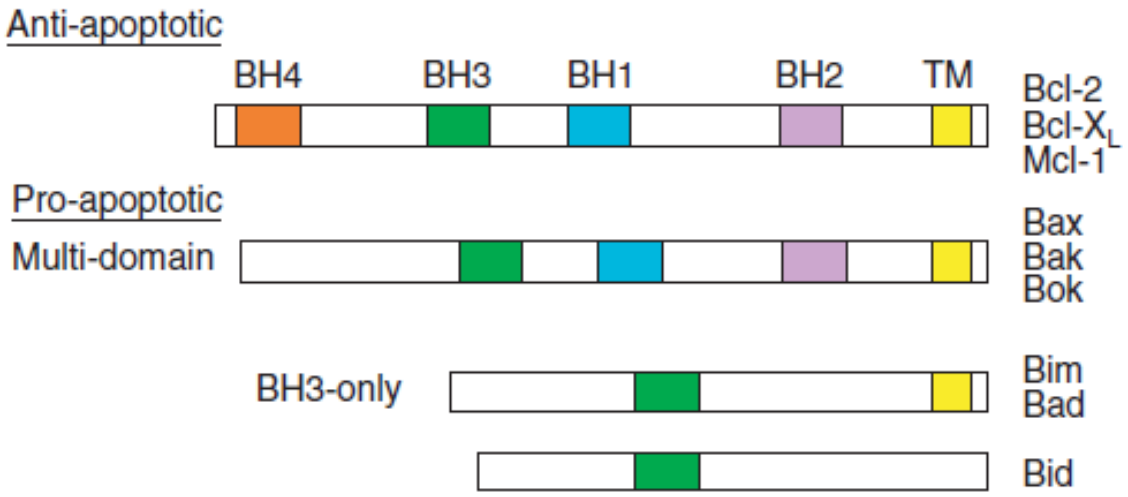


Figure 27. Représentation schématique des protéines de la famille Bcl-2 **(157)**

2. Mcl-1 (myeloid cell leukemia-1)

Mcl-1 est une molécule pro-apoptotique appartenant également à la famille *Bcl*-2 qui a aussi un rôle important dans la pathogénèse de la maladie puisque des travaux ont montré que son expression est corrélée de manière significative à un échec de rémission complète après chimiothérapie. L'identification récente de petites insertions séquentielles de 6 à 18 nucléotides dans le promoteur du gène de Mcl-1 au sein de certaines cellules de LLC (30%) montre le rôle important de Mcl-1 et la présence de ces insertions serait corrélée à une élévation de Mcl-1 avec une progression rapide de la maladie et une survie plus courte (160,161).

B. Rôle des micro-ARNs

Plus récemment, des études ont montré aussi le rôle des micro-ARNs (mi-ARNs) dans l'inhibition de l'apoptose. Ce sont des petits ARNs fonctionnels simple brin non codant qui jouent un rôle essentiel dans la régulation de l'expression des gènes en interagissant avec leur ARN messager (ARNm). Les mi-ARN-15a et mi-ARN-16-1, situés au niveau du chromosome 13q14 sont délétés ou hypoexprimés dans 65% des LLC-B (94). L'expression de ces deux mi-ARNs serait inversement corrélée à l'expression de Bcl-2 par une régulation négative de Bcl-2 à un niveau post-transcriptionnel. Ils agiraient donc comme des gènes suppresseurs de tumeurs dont les mutations engendreraient une surexpression de Bcl-2.

IV. Régulation du cycle cellulaire

Dans la LLC, les lymphocytes circulants en phase S est négligeable. Les cellules sont arrêtées en phase précoce du cycle cellulaire. Le cycle cellulaire est une succession très régulée de phosphorylations par des kinases, les CDK (*cyclin-dependent kinases*). Le milieu extérieur peut intervenir en augmentant l'expression des cyclines par des facteurs favorisant la prolifération, ou en augmentant l'expression de molécules inhibitrices de l'activité des CDK, les CKI (*cyclin dependent kinase inhibitors*) par des facteurs antiprolifératifs. Des études ont montré des taux élevés de la protéine p27, un inhibiteur de prolifération de la famille des CKI. La protéine p27 est surexprimée dans les LLC par rapport aux autres hémopathies lymphoïdes mais variable d'un patient à l'autre (162). Une élévation de p27 induit une progression de la maladie et donne à la LLC un pronostic péjoratif. Cette dérégulation des gènes du cycle cellulaire pourrait aussi contribuer à l'accumulation des cellules en phase G0/G1.

V. Prolifération

Comme vu précédemment, les cellules circulantes de LLC sont des cellules arrêtées en cycle. Leur accumulation suppose, outre le défaut d'apoptose qui les caractérise, une production continue. Cette prolifération de la population leucémique se traduit par la

variabilité des présentations cliniques et une hétérogénéité des marqueurs biologiques qui ont une valeur pronostique (TDL, taux sériques de tyrosine kinase, CD23, CD38, ZAP-70). Des études *in vivo* ont quantifié cette prolifération avec un taux de croissance de 0.1 à 1% de clones par jour avec 10^9 à 10^{10} nouvelles cellules leucémiques produites quotidiennement (55). Il existe bien sûr une relation entre un taux de croissance élevé et une maladie rapidement progressive. Les formes indolentes IgM mutées et IgG seraient post centre germinatif, la survie des cellules correspondantes serait due à une interaction chronique avec des antigènes nominaux, ces formes peu proliférives (1% par jour contre 4% dans les formes graves (messmer)) prolifèreraient par mimétisme antigénique. La survie à long terme des lymphocytes B dépend des interactions avec leur antigène nominal.

VI. Rôle du microenvironnement

Les signaux délivrés par contact direct de cellule à cellule ou par des facteurs solubles et qui peuvent survenir en même temps que l'engagement du BCR favorisent la croissance des cellules. La résistance de l'apoptose chez les cellules leucémiques *in vivo* qui définit la maladie et au contraire l'augmentation de l'apoptose spontanée lorsque ces cellules sont mises *ex vivo* montre que les cellules ont perdu des facteurs nécessaires à leur survie.

A Rôle des cellules stromales

La moelle osseuse est l'environnement privilégié des cellules de LLC, l'infiltration médullaire étant présent à tous les stades de la maladie. Le contact intime des lymphocytes de LLC avec les cellules stromales *in vitro* empêchent la régulation négative de bcl-2 dans les cellules de LLC prolongeant ainsi leur survie contrairement aux lymphocytes B normaux dont les cellules stromales ne sont pas capables de maintenir la survie (163). Les cellules stromales produisent des chimiokines responsable du trafic des cellules hématopoïétiques qui expriment leurs récepteurs. Il existe un récepteur de chemokine CXCR4 (CD184) à la surface des cellules leucémiques dont le ligand CXCL12 leur permet d'échapper à l'apoptose par contact direct de cellule à cellule (164). Les cellules de LLC surexpriment de façon

homogène le CXCR4. La fixation de son ligand entraîne une activation des MAP kinases dans les lymphocytes de LLC qui contribue à augmenter leur survie.

B Rôle des facteurs solubles

Les cellules de LLC semblent avoir sélectionné leurs capacités de réponse aux stimuli du microenvironnement de façon à répondre aux stimuli antiapoptotiques et être résistantes aux stimuli proapoptotiques. Les lymphocytes de LLC sont résistants à l'action du TGFβ, qui induit normalement une inhibition de la prolifération et une apoptose des cellules B normales. L'interaction du CD38 à la surface de la cellule B et de son ligand naturel le CD31 favorise la croissance leucémique. Le CD40, exprimée aussi par les cellules de LLC appartient à la famille des récepteurs du TNF ; il contribue par sa stimulation à protéger les cellules leucémiques de l'apoptose par la synthèse de la survivine, molécule inhibitrice de l'apoptose ou par l'expression de la molécule antiapoptotique Bcl-xL. Les cytokines produites par les cellules leucémiques telles que le TNF-α (Tumor necrosis factor-α), l'IL-8 et l'IL-2 qui sont absorbées par les cellules B tumorales via des récepteurs spécifiques, affectent la survie et la prolifération des cellules B de façon auto et paracrine. L'IL-4 est un facteur de survie des LB normaux et est produite à des taux significativement plus élevés dans la LLC (165). Elle entraîne *in vitro* une augmentation de la survie des cellules. Néanmoins, cette hypothèse est contredite dans certains articles. Pourtant il existe une signature transcriptomique de l'IL-4 dans la LLC.

VIII. Conclusion

L'homéostasie tissulaire est maintenue dans l'organisme grâce à l'équilibre prolifération/apoptose. Dans tout type de tumeur cet équilibre ne se fait plus soit en raison d'une augmentation de la prolifération soit à cause d'un défaut d'apoptose soit par l'association des deux phénomènes. Dans la LLC, il existe surtout un défaut d'apoptose *in vivo* avec en conséquence une accumulation de petits lymphocytes matures B bloqués en phase précoce du cycle cellulaire et ayant une durée de vie prolongée. Nous venons

d'énumérer quelques moyens d'échapper à l'apoptose mis en évidence dans les cellules de LLC pour lesquels à la fois le clone malin et son microenvironnement jouent un rôle non négligeable. Les facteurs de survie, les molécules antiapoptotiques, les régulateurs du cycle cellulaire sont autant d'acteurs dans la physiopathologie de la maladie. La compréhension de la physiopathologie de la LLC pourrait permettre d'envisager de nouvelles thérapeutiques ciblées sur le déséquilibre prolifération/apoptose.

Concernant l'origine du clone leucémique, elle semble être identique pour toutes les LLC même si la clinique et le pronostic peuvent varier. Les cellules B de LLC proviendraient d'une cellule qui pourrait être une cellule B1a ou une cellule de la zone marginale tandis que les LLC mutées seraient des cellules B2 post centre germinatif.

La molécule CD5

I. Introduction

La LLC est caractérisée par l'accumulation de cellules B matures exprimant la molécule CD5. La positivité du CD5 permet de différencier la LLC des autres SLP. La molécule est considérée comme caractéristique même si non spécifique de cette maladie. Nous allons nous intéresser à son origine, sa structure, sa fonction et son rôle certain dans la physiopathologie de la LLC.

II. Histoire de sa découverte

La première approche de la molécule CD5 remonte à plus de 30 ans. Cantor et Boyse en 1975 l'ont baptisée Lyt-1 car elle semblait n'être présente que sur certains lymphocytes T (166). Ceux-ci présentaient toutes les caractéristiques de lymphocytes "T-helper", alors que la surface des lymphocytes qui présentaient celles de lymphocytes "T-régulateurs" était dotée d'un autre marqueur, la molécule Lyt-2,3. Quelques années plus tard, grâce à l'apport

des anticorps monoclonaux et de la cytométrie en flux, l'équipe de Ledbetter s'est aperçu que la molécule Lyt-1 était retrouvée aussi sur les "T-régulateurs". Ainsi s'agissait-il d'un marqueur commun à tous les LT (167). Par la suite, Lyt-1 allait être décrit sur les cellules de certains lymphocytes B murins [Lanier 1981] ainsi que sur une faible proportion de lymphocytes B (LB) normaux localisés dans la rate (168,169). L'appellation "Lyt-1" devint "Ly-1". Parallèlement chez l'homme, l'existence d'une population de LB exprimant la molécule CD5 a été observée sur les lymphocytes de LLC en utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre les LT (170). Cette population a ensuite été mise en évidence dans les centres germinatifs (171) Les premiers travaux sur les cellules B CD5 ont conduit à distinguer physiquement et fonctionnellement différentes populations se développant chacune à différents moments de l'ontogénèse (172). Celle qui s'installe la première dans l'ontogénèse chez l'homme et la souris a été dénommée LB-1 et exprime la molécule Ly-1 ou CD5. La majorité des LB matures se trouvant au niveau des organes lymphoïdes et se développant tardivement dans l'ontogénèse a été appelée LB-2. Puis la population LB-1 a été subdivisée en B-1a exprimant le CD5 et en cellules B-1b ne l'exprimant pas en raison de la découverte chez la souris d'une population B qui possédait les caractéristiques des LB CD5 mais qui était dépourvue de molécule CD5.

III. Structure de la molécule

Il s'agit d'une glycoprotéine monomérique transmembranaire de type I de 67kDa de poids moléculaire, historiquement nommé Lyt-1 ou Ly-1 dans les modèles murins. Sa structure est fortement conservée au cours de l'évolution. Elle comprend un seul polypeptide de 471 acides aminés (173).

La molécule CD5, reconstituée à partir de l'ADN complémentaire contient quatre régions distinctes : une séquence signal, un segment extracellulaire, un segment transmembranaire et un segment intracellulaire.

- Le segment extracellulaire

La région extracellulaire constituée de 347 AA comprend trois récepteurs "scavenger" contenant des domaines riches en cytéine ou domaines SRCR (174). C'est une molécule appartenant à la famille des "scavenger receptor", tout comme CD6 avec laquelle elle a une

forte homologie. Ces domaines SRCR sont présents dans de nombreuses protéines membranaires des leucocytes. Ils ont été dénommés ainsi suite à la découverte du premier domaine SRCR sur la portion C-terminale du récepteur "scavanger", une protéine de type II trouvée sur les macrophages. Il n'existe pas de représentation tridimensionnelle de la structure de ces trois domaines SRCR. Une étude par microscopie électronique a permis d'identifier des sucres N liés sur les domaines ce qui suggère que la région extracellulaire se présente comme une tige (figure 28) (175). Ce domaine joue un rôle de protection (contre les infections fongiques et autres). Le domaine C terminal riche en cystéines favorise la survie par liaison avec la CAM kinase.

- La région transmembranaire

La région transmembranaire compte 31 AA situés entre la position 348 et 378. Elle correspond à une région très hydrophobe.

- La région intracytoplasmique

Le segment intracytoplasmique est relativement long (94 AA). Il comprend des motifs de régulation et d'activation ; ce qui suggère qu'il joue un rôle dans la transduction des signaux. On y trouve quatre résidus tyrosine (176), quatre résidus thréonine et 11 résidus sérines (177) formant des sites susceptibles d'être phosphorylés. Les tyrosines constituent deux motifs ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) qui peuvent être phosphorylés par les phosphotyrosine kinases (PTK) de la famille *Src*. Ce sont des sites receveurs pour les domaines SH2 (*Src homology-2*) de ces PTK (178). Après stimulation du TCR, CD5 s'associe à ZAP-70, à p21 phospho ζ (179), à la sous-unité p85α de la phosphatidylinositol 3-kinase (PI 3-K) (180) enclenchant ainsi la transduction du signal. Parallèlement à l'association de PTK aux motifs ITAM de CD5, plusieurs auteurs ont mis en évidence l'association de CD5 avec des phosphatases des résidus tyrosine. Il a été démontré que la molécule SHP-1 était associée à CD5 sur les thymocytes (181) et sur les LB-1a murins (182) La tyrosine 378 possède un motif ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) responsable de l'association de SHP-1 à CD5 (183). Cependant le rôle régulateur de CD5 dans la transduction du signal émanant du récepteur à l'antigène des LB (BCR) semble nécessiter la présence des motifs ITAM plutôt que ITIM associé à SHP-1 (184).. Le domaine intracellulaire est conservé entre le modèle humain et murin et est donc un élément important du système immunitaire.

Ainsi, la molécule CD5 peut assurer la transduction du signal par elle-même grâce à ses motifs ITAM. Mais elle peut aussi se comporter comme une molécule modulatrice et régulatrice de la transduction du signal reçu par le BCR.

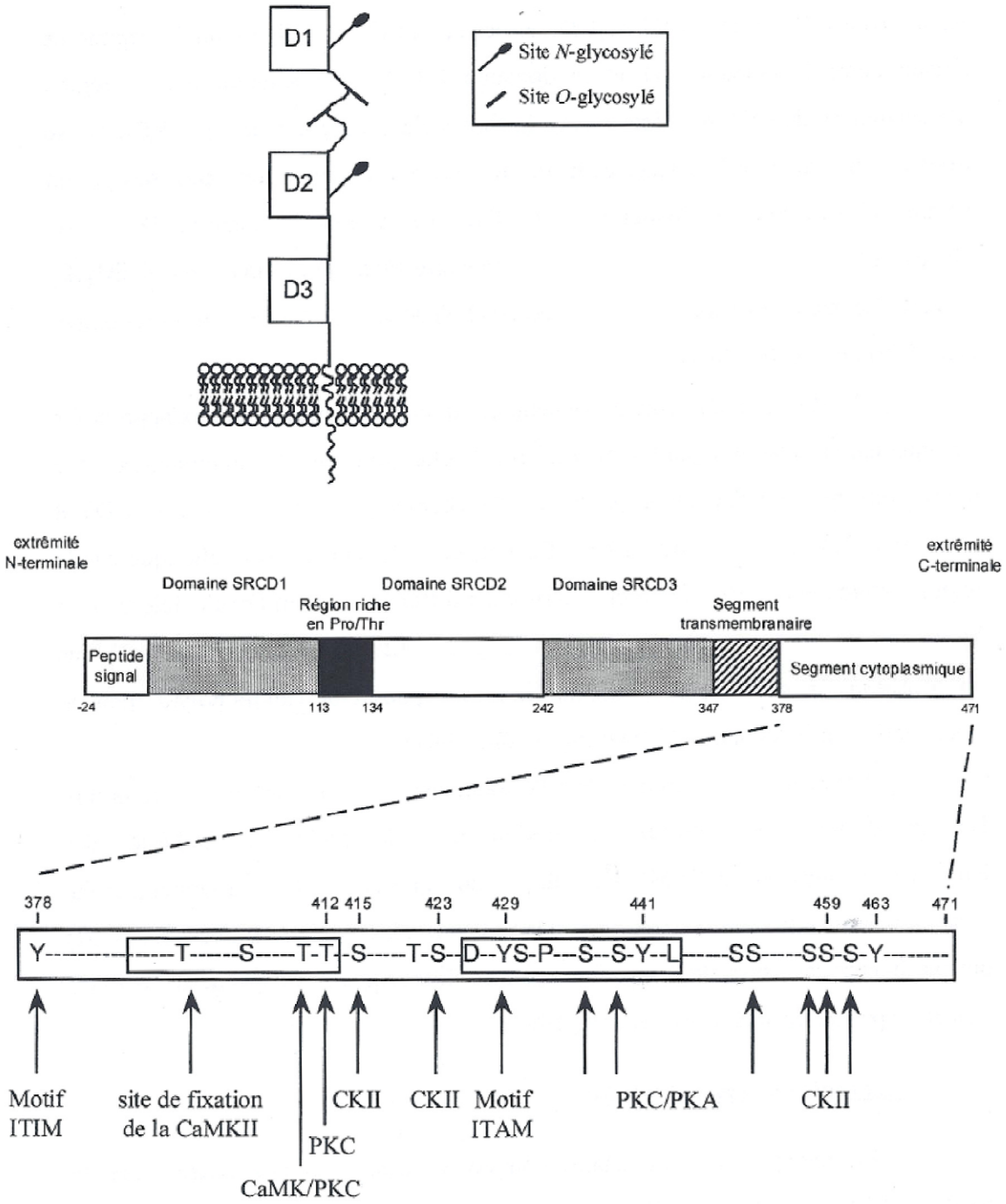


Figure 28. Représentation schématique de la structure de la molécule CD5. Les flèches indiquent les sites possibles de fixation des molécules responsables de la transduction du signal **(175)**

IV. Situation

Cette protéine est codée par le gène CD5 situé sur le chromosome 11 chez l'homme (11q12.2). Il est constitué de 11 exons avec une longueur de 24kb (figure 29).

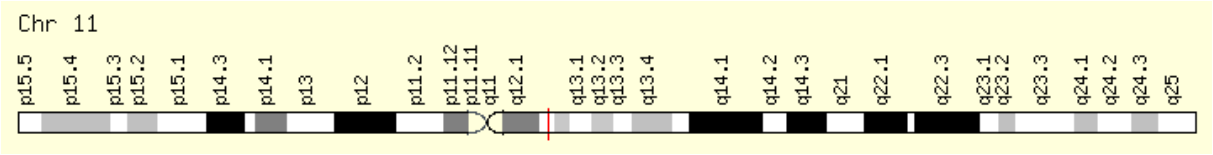


Figure 29 Représentation schématique du chromosome 11 avec localisation du gène CD5 en rouge (disponible sur www.genecards.org)

V. Ligands de CD5

Son ligand principal est le CD72, un récepteur présent à l'état naturel sur toutes les cellules B [Velde 1991] mais d'autres ligands ont été découverts comme la gp40-80 la région de la chaîne légère de l'Ig (VH) ainsi que d'autres protéines de surface.

Ligand	Espèce	Type de Cellules
CD72	Homme, souris	Toutes les cellules B
IgV_H	Lapin	Quelques cellules B
Glycoprotéine induite par l'antigène	Souris, Homme	Cellules T et B activées

Tableau 12. Les différents ligands de CD5 d'après **(185)**

VI. Distribution tissulaire des LB CD5+

Comme nous l'avons déjà vu, la molécule CD5 est un marqueur des cellules pan T c'est-à-dire exprimé à la surface de tous les lymphocytes T (thymocytes, lymphocytes T matures et

précurseurs T), le niveau d'expression du CD5 est donc corrélé à celui du CD3. Au contraire, CD5 n'est pas présent sur tous les lymphocytes B mais est exprimé par une sous-population de lymphocytes B bien distincte, les lymphocytes B1, issu du péritoine (186) qui ont été décrits initialement chez la souris avec des lymphocytes B1a qui expriment le CD5 et les B1b qui ne les expriment pas (168,185). Contrairement au modèle murin, l'expression de CD5 est hétérogène dans les cellules B humaines. Cinq à 10 % des cellules B circulantes sont $CD5^+$ chez l'homme adulte(187,188). Ces LB $CD5^+$ représentent moins de 30% des cellules B des ganglions lymphatiques et des amygdales, où ils se concentrent autour des centres germinatifs (171) ainsi que dans les organes lymphoïdes secondaires. Ils sont absents de la moelle osseuse adulte (189). Dans le péritoine, 63% des LB possèdent le marqueur CD5 (190) . Dans le sang périphérique, les cellules CD5+ représentent 5 à 30% des cellules B de l'adulte et plus de 80% chez le nouveau-né et diminuent avec l'âge (191). Chez l'adulte, les cellules CD5+ se partagent entre les cellules B1a " like" et B2 activés (192). Chez le nouveau-né par contre il y a une majorité de cellules BCD5+ mais on ne connait les proportions de cellules B1a et B transitionnelles. Ces dernières cellules sont probablement celles qui apparaissent lors de la reconstitution post-greffe de CSH car elles disparaissent en deux semaines et sont remplacées ensuite par des cellules $BCD5^-$. Initialement, les cellules $CD5^+$ issues du péritoine sont autoréactives, productrices d'IgM naturelles polyréactives et dépourvues de mutations somatiques et de lognue durée de vie et sont T-indépendantes.Donc les cellules BCD5 de LLC correspondraient aux cellules B1a décrites mais ces dernières sont IgM^+ et $CD23^-$ ce qui va à l'encontre du phénotype des cellules B de LLC. De plus, Le CD5 est un marqueur d'activation au niveau des cellules B2 ; sachant que le transcriptome des LLC est celui des cellules B activées, les cellules de LLC proviendraient des cellules B2 activées de façon chronique avec un autoantigène ce qui provoquerait une inhibition d'expression d'IgM. Les formes mutées sont des B2 post centre germinatif, les formes non mutées sont des B2 pré centre germinatif ou des B1a qui sont phénotypiquement identiques aux cellules de LLC. Les cellules B2 sont sélectionnées négativement car elles ont des IgS de forte affinité, il y a donc délétion des clones autoréactifs. Dans une revue de Dalla Favera en 2005, les formes agressives de LLC seraient des cellules B2 non éliminées par sélection négative et les formes indolentes des cellules B de la zone marginale(193).

VII. La molécule CD5 dans les pathologies auto-immunes

Les cellules B1 interviennent dans le mécanisme des maladies auto-immunes, notamment dans la polyarthrite rhumatoïde où a été trouvé dans le sang de patients souffrant de cette pathologie un nombre de LB CD5 anormalement élevé (194). Ce nombre est particulièrement élevé chez les patients présentant un fort taux de facteur rhumatoïde de type IgM avec une production plus importante par les LB $CD5^+$ que les LB $CD5^-$(195). Cela semble être le même cas pour les patients avec un lupus érythémateux disséminé ou un diabète de type 1. Ces éléments montrent que ce sous-ensemble de cellules B est responsable de la production d'auto-anticorps "naturels". Ainsi la responsabilité des LB CD5 a été considérée comme engagée dans la production d'auto-anticorps au cours de maladies auto-immunes.

Les mécanismes en jeu dans les maladies auto-immunes non spécifiques d'organes (activation polyclonale des LB par exemple) peuvent être comparés à ceux qui interviennent dans les syndromes lymphoprolifératifs (activation monoclonale des LB par exemple). Ainsi, comme le nombre de clones à l'origine de ces deux types de pathologies semble être établi, les LB $CD5^+$ pourraient être responsables de la production d'auto-anticorps dans le premier type de pathologie et sensibles à la transformation maligne dans le second. Le fait que CD5 soit exprimé sur des cellules productrices d'auto-anticorps est l'une des particularités essentielles des LB-1a. Il a été démontré que CD5 exprimé sur les LB jouait un rôle dans le maintien de la tolérance vis-à-vis des auto-antigènes (196,197). Les cellules B $CD5^+$ apparaissent donc occuper une situation particulière au sein du système immunitaire. L'existence de ces autoanticorps polyréactifs pourrait expliquer les manifestations auto-immunes rencontrées dans la LLC (197). Dans les souris CD5KO les lymphocytes sont hyperactivés si le récepteur à l'antigène est mis en route (voir plus loin) mais ils ne sont pas plus actifs que les lymphocytes des souris sauvages si on les active avec du CD40L. Ainsi le rôle du CD5 est d'empêcher les lymphocytes de réagir fortement à une stimulation antigénique via le récepteur à l'antigène, si tel n'est pas le cas on parle d'autoimmunité.

VIII. Rôle de la molécule CD5 dans la transduction du signal via le BCR

Le rôle du CD5 a été décrit la première fois par l'équipe de Hayakawa qui a montré que le CD5 avait une seule fonction, celle de favoriser les cellules B à produire des anticorps IgM autoréacifs (168). Il a été ensuite démontré que le CD5 participait à la régulation de l'immunité avec contrôle des processus d'auto-immunité et protection contre ce processus (192).

Bien que la fonction précise du CD5 ne soit pas complètement élucidée, il semble que cette molécule apparaît comme une molécule de costimulation dans les modèles murins et humains.

Une importante fraction (environ 25%) des cellules BCD5+ coexpriment la molécule CD27 qui est un récepteur aux cytokines, également exprimée par les cellules mémoires ce qui suggère aussi que le CD5 est un marqueur d'activation. Il est démontré que le CD5 était couplé de façon physiologique au TCR (récepteur des cellules T) (179) et au BCR (récepteur des cellules B) jouant un rôle de régulation du signal déclenché par les deux récepteurs (198). Dans des études récentes sur un modèle de souris dépourvu de CD5, il a été démontré que ce récepteur régulait de façon négative le signal médié par le récepteur à l'antigène au niveau des thymocytes et des cellules B1. L'absence de CD5 chez la souris amenait les cellules B à proliférer par le biais de son IgM econtrairement aux souris wild-type $CD5^+$. Les cellules B1 ont développé une forme de résistance à l'apoptose par l'expression d'Immunoglobuline membranaire M. Le mécanisme par lequel le CD5 inhiberait les signaux du BCR et TCR n'est pas encore complètement élucidé. Plusieurs données biochimiques ont révélé que le CD5 exerce cette fonction d'inhibition au niveau d'une protéine tyrosine kinase (PTKs) par le recrutement du domaine SH2 contenant SHP1 (199). Cette protéine, retrouvée exclusivement dans la lignée hématopoïétique est un régulateur négatif essentiel dans la signalisation des cellules B et T. SHP1 est associé constitutivement au BCR sur les cellules B1. Pour expliquer cette fonction inhibitrice une séquence cytoplasmique du CD5 représente un site d'accueil pour la tyrosine phosphate SHP1. Cette phosphatase est considérée comme étant un gène suppresseur de tumeur, elle est réprimée dans de nombreuses hémopathies. Le CD72 est un ligand pour SHP1, lorsqu'il est phosphorylé, il peut transmettre un signal pour le BCR, celui d'induire l'apoptose. La déphosphorylation de CD72 entraîne un rôle positif de SHP1 dans la signalisation du BCR (200,201). Le CD5 favorise une interaction

prolongée entre le BCR et SHP1 (182). La molécule CD5 exerce donc un rétrocontrôle négatif sur le BCR qui contribue à la survie des cellules B de LLC. Il existe plusieurs signaux extracellulaires transmis au BCR qui vont avoir des conséquences différentes sur l'activation et la transduction du signal avec certains signaux qui vont avoir un effet négatif sur la signalisation, c'est le cas de CD5 mais aussi CD72 ou CD22 et d'autres qui agissent de manière positive (figure 30).

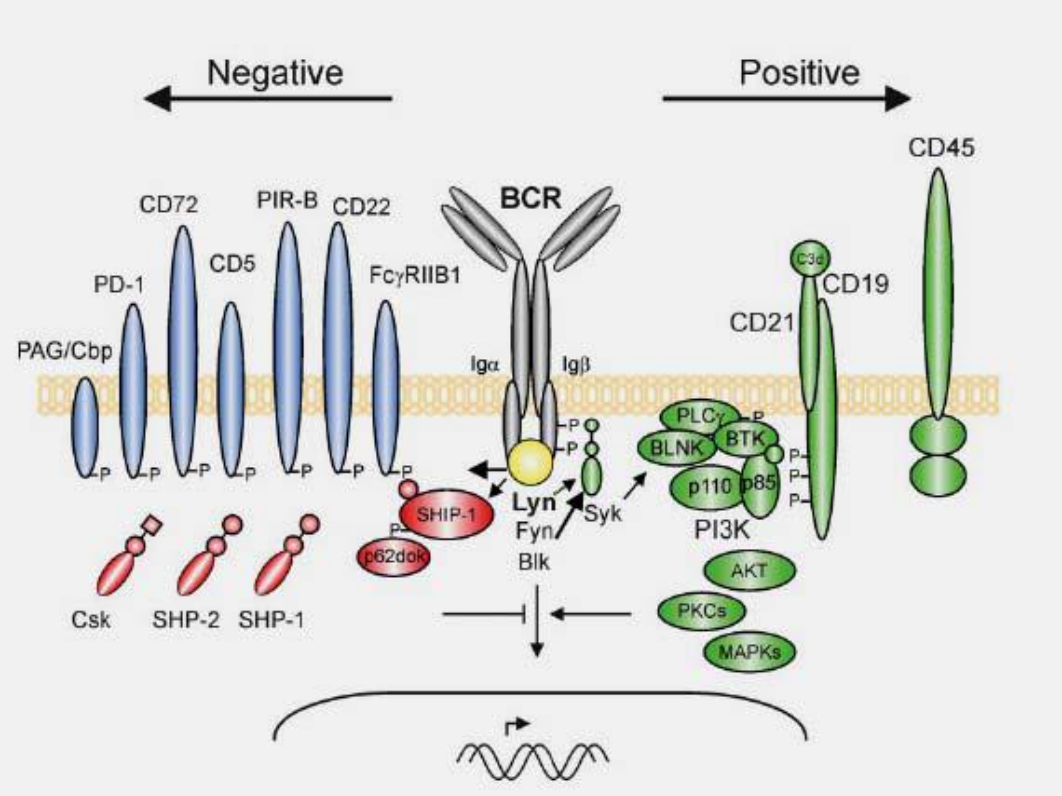


Figure 30. Signaux intervenant dans l'activation positive ou négative du BCR **(202)**

En résumé, le CD5 s'associe au récepteur à l'antigène (TCR par le biais de p21ζ ou BCR par Igα/β). Dès que le récepteur à l'antigène est ciblé par son antigène spécifique, il migre dans les radicaux riches en cholestérol où il se lie au complexe de signalisation entraînant une cascade qui aboutit d'un côté à la prolifération et la différenciation (voie de la PKC) et de l'autre côté à l'ouverture des canaux calciques et au flux calcique dans le cytosol.

La molécule CD5 dans la LLC

I. Mécanismes en cause dans le défaut d'apoptose au cours la LLC

Les LB $CD5^+$ s'accumulent par défaut d'apoptose et il est courant de voir ces patients développer des phénomènes auto-immuns. Dans la majorité des cas, les auto-anticorps sont dirigés contre des auto-antigènes exprimés par les érythrocytes ce qui provoque des cytopénies auto-immunes (203).

L'autre caractéristique de ces lymphocytes est la faible expression des immunoglobulines de surface ce qui permet de distinguer les cellules B de LLC de celles des lymphomes à petites cellules (204). Une expression faible de l'IgM n'existe que sur les LB qui ont été anergisés par interaction avec un auto-antigène. Cette capacité à produire des auto-anticorps après transformation maligne est un début d'explication à la survie de ces cellules car l'interaction d'une immunoglobuline monoclonale auto-réactive avec son auto-antigène prévient l'apoptose des cellules malignes (205). L'absence de réponse au BCR peut s'expliquer par des anomalies de ce récepteur. Effectivement, le domaine extracellulaire de la sous-unité β du BCR (CD79b) manque chez la plupart des patients atteints de LLC. Ce bas niveau de BCR sur la membrane des cellules B de LLC entraîne un signal de transduction anormal qui est corrélé à une diminution de l'activité des protéines tyrosine kinase en particulier *Src* kinase Lyn (206). De même la molécule CD22 qui potentialise la prolifération induite par un signal reçu par le BCR est absente à la surface de ces cellules (16). L'équipe de Castejon a montré qu'en ajoutant certaines cytokines comme IL-2, IL-4 et IL-10 la mort cellulaire était différée (207).Parmi toutes les cytokines, l'IL-10 semble jouer un rôle privilégié. Une production exagérée d'IL-10 semble favoriser l'expansion des LB et la production d'anticorps. L'équipe de Howard en 1992 a suggéré que l'IL-10 plutôt qu'agir directement sur les LB, favorise l'expression ou la régulation d'autres cytokines directement responsables de la prolifération des LB (208).L'IL-10 est la cytokine la plus importante dans la survie prolongée des cellules B-1 *in vivo* et *in vitro*. Le mécanisme de la production d'IL-10 n'est pas connu mais il semble exister une relation directe possible entre l'expression de CD5 et la sécrétion d'IL-10. En étudiant les cellules B périphériques humaines, les cellules B $CD5^+$ (qui représente 10% des cellules B) produisent plus d'IL-10 et ont une survie plus longue *in vitro* après activation par rapport aux cellules $CD5^-$. L'association de CD5 aux cellules $CD5^-$ induit la production d'IL-10 par l'activation d'un promoteur et la synthèse de son microARN. CD5 induit donc la survie

des cellules B grâce à la production d'IL-10 et exerce un rétrocontrôle négatif sur la signalisation par le BCR (209). La molécule *Bcl*-2, molécule anti-apoptotique est fortement exprimée dans la LLC alors qu'elle n'y est que faiblement dans les LB normaux (210). Cette surexpression de *Bcl*-2 peut être une des explications de l'absence de progression des LB $CD5^+$ de LLC dans le cycle cellulaire et leur blocage en phase G0. A l'inverse, dans les pathologies auto-immunes comme le LED ou la PR, il existe une sur-expression de *c-myc* donc une activation des LB $CD5^+$ et une augmentation de l'apoptose. Il existe donc différents facteurs qui sont surexprimés ou au contraire réprimés au cours de la LLC qui peuvent expliquer l'accumulation des cellules B de LLC (figure 31) [Caligaris-Cappio 1999].

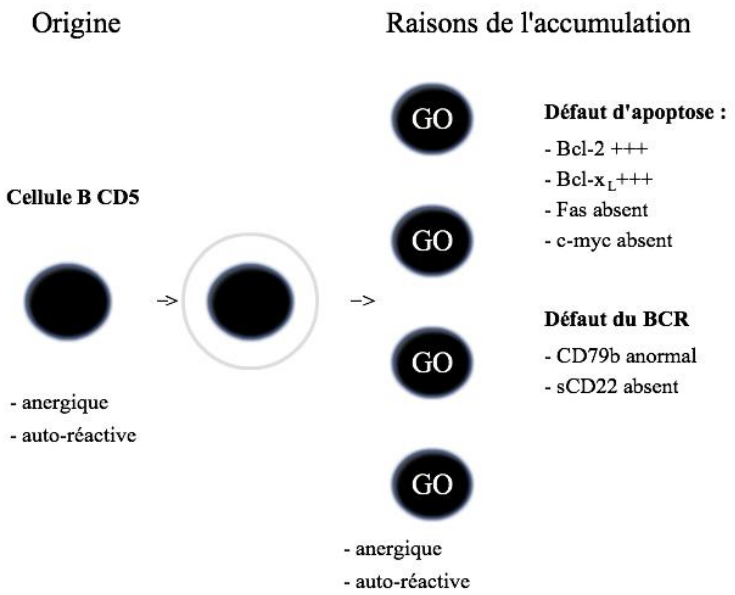


Figure 31. Schéma des événements impliqués dans l'origine de l'accumulation des cellules B de LLC d'après **(147)**

II. CD5 et niveau de résistance à l'apoptose dans la LLC

Des travaux intéressants de l'équipe de Jo. Pers sur la réponse des cellules de LLC à l'apoptose ont été réalisés grâce à l'utilisation d'un anticorps monoclonal (acm) anti-CD5. En effet le premier anticorps monoclonal qui a été retenu pour traiter la LLC est l'anti-CD5. Ces

travaux ont permis de découvrir qu'en culture, un acm anti-CD5 induisait l'apoptose de LB de la moitié des cas alors qu'il est inefficace sur l'autre moitié. Il a été aussi montré qu'il existe plus d'IgM et de molécules CD5 à la surface des LB quand la LLC réagit à l'anti-CD5 que quand elle ne le fait pas. Ensuite la transduction du signal d'apoptose lancé par l'acm à partir de la molécule CD5 a été étudiée dans cette même étude. Ce signal parvient au noyau de la cellule en partant de la molécule CD5 et en transitant par le BCR. Pour qu'un signal d'apoptose soit transmis, il faut que tous les constituants du BCR soient fonctionnels. Comme vu plus haut, il existe une forme tronquée de CD79b qui est l'un des constituants du BCR et c'est cette forme qui prédomine dans les LB de la LLC. Les LB des LLC résistant à l'apoptose soumise par CD5 détiennent plus de formes tronquées de CD79b que ceux des LLC qui lui étaient sensibles. La transmission du signal d'apoptose de CD5 par l'intermédiaire des molécules du BCR n'est possible que si CD5 et le BCR se trouvent dans des structures spécialisées de la membrane plasmique appelées radicaux lipidiques.

L'équipe de JO Pers a donc montré que l'entrée en apoptose des LB de malades atteints de LLC après stimulation par un anticorps anti-CD5 était différente en raison de l'hétérogénéité de cette pathologie. Dans cette étude, deux groupes ont été observés, après culture en présence d'un anticorps anti-CD5 : le groupe I qui contenait des LB résistants et le groupe II des LB sensibles. Les LB du groupe II (groupe défavorable) exprimaient des niveaux plus élevés de molécules CD5, IgM, CD38 et CD79b que ceux du groupe I (groupe favorable). Ce qui peut suggérer que l'expression de ces molécules est corrélée à la sévérité de la maladie (211).

Conclusion

La leucémie lymphoïde chronique est une hémopathie chronique caractérisée par l'accumulation de petits lymphocytes matures bloqués en phase G0 du cycle cellulaire. Cette accumulation est secondaire à un défaut d'apoptose qui fait intervenir de nombreux facteurs pro et antiapoptotiques dont la balance fera entrer ou pas la cellule en mort cellulaire programmée. Il existe dans la LLC une hyperexpression des marqueurs anti-apoptotiques et au contraire un défaut d'expression des molécules pro-apoptotiques.

La molécule CD5 caractérise les cellules de LLC puisque qu'elle est présente chez presque 100% de ces cellules. Elle intervient de façon certaine dans la transduction du signal en exerçant un rétrocontrôle négatif sur le BCR et le TCR via des facteurs de signalisation. Il a été maintenant prouvé le rôle certain de cette molécule dans le maintien en anergie des cellules de LLC *in vivo* et dans leur prolifération avec inhibition de la mort cellulaire programmée par l'intermédiaire de mécanismes qui ne sont pas encore complètement élucidés mais qui font intervenir des molécules comme IL-10 ou le calcium. Les cellules de LLC vont répondre différemment aux signaux d'apoptose en fonction de l'expression de molécules en particulier CD5 à leur surface ce qui permet d'expliquer en partie l'hétérogénéité de cette pathologie. Il était donc intéressant d'étudier l'expression de cette molécule CD5 dans une série de patients atteints de LLC qui compose la partie III de ce travail.

TROISIEME PARTIE :

ANALYSE DES DONNEES

Introduction

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) représente la leucémie la plus fréquente dans le monde occidental. Sa prise en charge a été modifiée ces dernières années par une meilleure compréhension de sa physiopathologie et par l'arrivée de nouveaux marqueurs pronostiques. Les progrès dans la caractérisation biologique (phénotypique et génétique) de la LLC ont permis l'identification de sous-groupes pronostiques de patients ce qui permet de proposer une prise en charge thérapeutique « ciblée » et personnalisée adaptée au risque de chacun. Le travail qui va être présenté dans cette troisème partie a pour but d'étudier la molécule CD5, un marqueur qui fait partie du score de Matutes, indispensable pour classer les syndromes lympho-prolifératifs (SLP). Cette étude rétrospective a évalué en particulier l'intérêt de la mesure de l'intensité de fluorescence du CD5 dans le LLC. Nous avons testé les liaisons possibles de CD5 avec d'autres critères diagnostiques ainsi que son impact pour la stadification et le pronostic de la maladie. Nous avons évalué si le CD5 pouvait être un marqueur pronostique propre et s'il pouvait permettre de prédire le caractère agressif ou indolent et l'évolution plus ou moins rapide de la maladie.

Analyse de l'étude

I. Patients, matériels, méthodes

A. Description générale de l'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective, monocentrique, univariée qui a permis l'inclusion des patients atteints de LLC dont le diagnostic a été effectué entre 2006 à 2010. Les patients étaient pris en charge au CHU de Nancy et dans d'autres centres hospitaliers périphériques (Epinal, Metz, Thionville, Bar-le-Duc, Verdun). Tous les phénotypes ont été effectués dans le service d'hématologie biologique du CHU de Nancy (procédure technique identique et validation du résultat homogène par le Dr JF. Lesesve dans la quasi-totalité des cas).

B. Patients et prélèvements

1. Patients inclus

Sept cent soixante-neuf patients ont été inclus car ils répondaient aux critères diagnostiques établis par l'IWCLL à savoir :

- Une lymphocytose supérieure à 5 G/L constituée par des petits lymphocytes matures dans le sang périphérique avec une chronicité supérieure ou égale à 3 mois. Nous avons néanmoins décidé pour notre étude de prendre un taux minimum arbitraire de 4 G/L afin d'augmenter notre effectif.

- Les caractéristiques immunophénotypiques suivantes : panel composé au moins des marqueurs du score de Matutes avec co-expression par les lymphocytes des CD19 et CD5 ainsi que du CD23, expression faible de l'IgS, absence d'expression ou expression faible du CD79b, expression du CD22 ou FMC7 négative ou faible. Le score de Matutes était supérieur ou égal à 4.

- Tous les immunophénotypages ont été effectués au moment du diagnostic.

Les critères d'inclusion de l'étude étaient :

- Diagnostic clinique, biologique, phénotypique de LLC, tout stade de Binet confondu
- Age supérieur à 18 ans
- Positivité du CD5 avec IMF > 19 (seuil fondé sur les valeurs de référence du laboratoire, propres au clone et au fluorochrome utilisé)

Les critères d'exclusion étaient :

- Age inférieur à 18 ans
- Autre diagnostic que LLC (dont la lymphocytose monoclonale B et les autres syndromes lymphoprolifératifs B)
- Négativité ou positivité très faible du CD5 (exclusion pour une IMF ≤ 19)

2. Prélèvements pour l'immunophénotypage lymphocytaire

a. Types de prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés pour chacun des patients au moment du diagnostic. L'immunophénotypage par cytométrie en flux (CMF) a été réalisé à partir d'échantillons de sang veineux total périphérique, prélevé au pli du coude et placé dans un tube contenant de l'EDTA (acide éthylène diamine tétra acétique).

b. Transport, stockage et contrôle des prélèvements

Les prélèvements destinés à l'immunophénotypage lymphocytaire ont été adressés au service d'hématologie biologique du CHUN, selon les procédures habituelles et dans les meilleurs délais (< 12 heures) et maintenus à température ambiante (environ 20°C).

Lors de l'arrivée au laboratoire l'aspect des échantillons a été vérifié, notamment pour s'assurer de l'absence de caillot ou d'hémolyse. Un hémogramme a ensuite été effectué et un frottis sanguin préparé et coloré au MGG. Il a été systématiquement observé en microscopie optique afin d'apprécier les caractéristiques cytologiques des cellules. Celles-ci ont été indiquées dans le compte-rendu du test.

C. Matériels

1. Appareils

- centrifugeuse G4-12 JOUAN utilisée pour la séparation des cellules mononucléées avant l'immunophénotypage,
- appareil d'hématimétrie ADVIA 2120® (Siemens, Tarrytown, NY USA) pour la réalisation de l'hémogramme afin de déterminer le nombre de leucocytes et le pourcentage de lymphocytes avant la réalisation de l'immunophénotypage,

- cytomètre en flux quatre couleurs FACScalibur® (Becton Dickinson) pour la réalisation de l'immunophénotypage utilisé avec le logiciel CellQUEST® pour l'interprétation des résultats.

2. Matériels pour l'immunophénotypage

- tubes pour cytomètre (Becton Dickinson)
- chronomètre

3. Réactifs pour l'immunophénotypage

Réactifs conservés à 4°C : les anticorps monoclonaux (Tableau XIII)
BECTON DICKINSON :
- contrôle isotypique IgG1 marqué à la phycoérythrine (IgG1 PE)
- anticorps anti-CD4 couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine/anti-CD8 couplé à la phycoérythrine/anti-CD3 couplé à une protéine de chlorophylle de péridinine (TriTEST CD4 FITC/ CD8 PE/ CD3 PerCP
- anticorps anti-CD22 couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine (anti-CD22 FITC)
- anticorps anti-CD45 couplé à l'allophycocyanine (anti-CD45 APC)

DAKO :
- contrôle isotypique IgG1 marqué à l'isothiocyanate de fluorescéine (IgG1 FITC)
- contrôle isotypique IgG1 couplé à la phycoérythrine cyanine 5 (IgG1 PE-Cy 5)
- anticorps anti-CD43 couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine (anti-CD43 FITC)
- anticorps anti-CD23 couplé à la phycoérythrine (anti-CD23PE)
- anticorps anti-FMC7 couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine (anti-FMC7 FITC)
-anticorps anti-CD20 couplé à la phycoérythrine (anti-CD20 PE)
- anticorps anti-chaînes légères Kappa couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine/ anticorps anti-chaînes légères Lambda couplé à la phycoérythrine R/ anticorpsanti-CD19 couplé avec la R-phycoérythrine-cyanine 5 (anti-Kappa FITC/ anti-Lambda RPE/ anti-CD19 RPE-Cy5)
- anticorps anti-CD27 couplé à la phycoérythrine (anti-CD27 PE)
- anticorps anti-Ig A couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine (anti-Ig A FITC)
- anticorps anti-Ig D couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine (anti-Ig D FITC)
- anticorps anti-Ig G couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine (anti-Ig G FITC)
- anticorps anti-Ig M couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine (anti-Ig M FITC)
- anticorps anti-CD103 couplé à la phycoérythrine (anti-CD103 PE)
- anticorps anti-CD25 couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine (anti-CD25 FITC)

BECKMAN COULTER :

- anticorps anti-CD19 couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine/ anticorps anti-CD5 couplé à la phycoérythrine (anti-CD19 FITC/ anti-CD5 PE)
- anticorps anti-CD19 couplé à la phycoérythrine cyanine 7(anti-CD19 PC7)
- anticorps antiCD79b couplé à la phycoérythrine (anti-CD79b PE)
- anticorps anti-CD38 couplé à la phycoérythrine (anti-CD38 PE)
- anticorps anti-CD10 couplé à la phycoérythrine (anti-CD10 PE)
- anticorps anti-CD24 couplé à la phycoérythrine (anti-CD24 PE)
- anticorps anti-CD11c couplé à la phycoérythrine (anti-CD11c PE)

<u>Réactifs conservés à température ambiante</u>

- Tampon phosphate buffer Saline (PBS) : Cellwash réf. 349524 (BECTON-DICKINSON)
- eau distillée (PHARMACIE CHU)
- solution de lyse : BD Facs Lysine Solution (obtenue par dilution au 1/10ème en eau distillée)

Anticorps		Fluorochrome					Clone	Fabricant		
		FITC	**PE**	**Pe-Cy7**	**PercP**	**APC**		**Beckton Dickinson**	**Beckman Coulter**	**Dako**
Conj (CD19-5)	**CD5**		♦				BL1a		♦	
	CD19			♦			J3-119			
CD3					♦		UCTH1		♦	
CD10			♦				ACB1		♦	
CD19							J3-119		♦	
CD20			♦				BL-Ly1			♦
CD22		♦					S-HCL-1	♦		
CD23			♦				MHM6			♦
IgA							ND			
IgD							ND			
IgG							ND			
IgM							ND			
Conj (4-8-3)	CD3				♦		SK7	♦		
	CD4	♦				♦	SK3	♦		
	CD8		♦				SK1	♦		
CD28					♦		L293	♦		
CD38			♦				LS198-4-3		♦	

Tableau 13 Panel d'anticorps monoclonaux utilisés.

D. Méthodes

1. Immunophénotypage lymphocytaire

a. Principe

La cytométrie en flux est une technique d'analyse multiparamétrique cellule par cellule dans une population cellulaire hétérogène en suspension. Chaque cellule, entraînée à grande vitesse par un fluide au centre d'une veine liquide, passe devant une source d'excitation lumineuse (faisceau laser) permettant son analyse physique de taille et de structure. Chaque cellule passant devant le faisceau laser peut émettre une fluorescence naturelle où résultant de l'incorporation ou de la fixation de fluorochromes (couplés le plus souvent à des anticorps monoclonaux qui peuvent reconnaître des épitopes membranaires ou intracellulaires après perméabilisation). Les signaux détectés par le système optique sont amplifiés, convertis en signaux électroniques, puis en valeurs numériques permettant l'analyse sur unité informatique.

b. Immunomarquage

La suspension cellulaire est marquée par immunofluorescence directe avec divers anticorps monoclonaux couplés à des fluorochromes qui sont spécifiques de marqueurs lymphoïdes :

- **B** : CD10/CD11c/CD19/CD20/CD22/CD23/CD24/CD25/CD27/CD38/CD43/CD79b/ CD103/FMC7/Kappa/Lambda/IgA/IgD /IgG /IgM

- **T** : CD3/CD4/CD5/CD8

L'analyse est réalisée sur sang total sans lavage préalable sauf pour la détermination des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines membranaires qui demande l'élimination des immunoglobulines circulantes.

c. Analyse cytométrique

L'acquisition se fait à l'aide du logiciel CellQuest. Sur la représentation biparamétrique taille (LIN)/structure (LIN), on réalise la fenêtre R1 ciblant les éléments lymphoïdes :

- Sur la représentation biparamétrique FL1 FITC (LOG) /FL2 PE (LOG) conditionnée sur R1, réalisation un quadrant statistique pour analyser les marqueurs spécifiques étudiés pour chaque tube. Ce principe est le même pour les représentations biparamétriques FL1 FITC (LOG)/ FL3 PE Cy5(LOG) et FL2 PE (LOG)/ FL3 PE Cy5(LOG).

- Les intensités moyennes de fluorescence (IMF) sont relevés sur le quadrant statistique des cytogrammes en « x geo mean » ou « y geo mean » selon la représentation biparamétrique.

E. Expression des résultats

Les résultats sont rendus en pourcentage de cellules exprimant le marqueur étudié et en intensité moyenne de fluorescence (IMF). Les différents marqueurs entrant dans le score de Matutes ont été répertoriés pour chaque patient avec des valeurs en pourcentage et en IMF obtenue en utilisant des réactifs fluorescents ou fluorochromes couplés aux anticorps. C'est une unité traditionnellement utilisée pour caractériser la distribution de fluorescence d'une population de particules. Pour un flurochrome donné, l'intensité de fluorescence de chaque particule est distribuée sur une échelle de 256 ou 1044 canaux. L'IMF exprime le canal médian de l'ensemble des canaux occupés par la distribution de fluorescence des particules. Cette mesure en canaux est ensuite transformée en unités arbitraires (0.1-1000) sur une échelle logarythmique. Cette Intensité Moyenne de Fluorescence traduit le nombre de sites antigéniques du marqueur concerné à la surface des lymphocytes. Plus les sites antigéniques sont présents, plus le nombre d'anticorps fixés sera important, plus l'IMF sera élevée.
Les marqueurs de la lignée T (CD3, CD4, CD8), ceux de la lignée B (CD20 ainsi que les marqueurs appartenant au score de Matutes : CD5, CD79b, CD23, CD22 ou CD79b, FMC7, les chaînes légères kappa et lambda, les chaines lourdes (IgG, IgA, IgM, IgD)) et le marqueur pronostique CD38 ont été étudiés ainsi que d'autres facteurs pronostiques tels la génétique

avec les anomalies cytogénétiques dites "défavorables" (anomalies de p53 et ATM) et celles dites "non défavorables" et le statut mutationnel des Immunoglobulines (non mutées dit de mauvais pronostic et mutées dit de bon pronostic) avec plus précisément la mutation VH4-34 qui apparait de plus mauvais pronostic.

II. Critères étudiés

A. Population

Il s'agit de patients adultes, hommes et femmes dont le diagnostic de LLC a été établi biologiquement par au moins un hémogramme et un immunophénotypage lymphocytaire sanguin au moment du diagnostic. Les différents résultats ont été récupérés de 2006 à 2010 grâce aux archives papiers et informatiques. Ces patients avaient tous une hyperleucocytose avec hyperlymphocytose au diagnostic.

B. Marqueurs

Les différents marqueurs étudiés dans cette étude sont :

- les leucocytes en valeur absolue
- les lymphocytes en pourcentage et en valeur absolue
- les anomalies génétiques (séparée en génétique favorable/défavorable)
- le CD3 (en % et IMF)
- le CD19 (en % et IMF)
- le CD5 (en % et IMF)
- le CD10 (en %)
- le CD20 (en % et IMF)
- le CD22 (en % et IMF)
- le CD23 (en % et IMF)

- le CD38 (en % et IMF)
- le CD43 (en % et IMF)
- le CD79b (en % et IMF)
- FMC7 (en % et IMF)
- chaînes légères kappa (en % et IMF)
- chaînes légères lambda (en % et IMF)
- chaînes lourdes : IgG/IgA/IgM/IgD (en IMF)

C. Stades de Binet

Le stade de Binet a été recherché à partir des courriers de consultation et d'hospitalisation. Le stade n'a pas pu être établi pour certains patients du fait de la difficulté à accéder à leurs dossiers ou parce qu'ils ont été perdus de vue ou pris en charge initialement dans d'autres services hospitaliers.

D. Cytogénétique

Ces analyses ont été effectuées dans service de cytogénétique du CHU de Nancy. Au moment du diagnostic, une étude par Hybridation In Situ par Fluorescence (FISH) a été réalisée. Les sondes utilisées marquaient le locus p53 (chromosome 17), le locus ATM (chromosome 11), ainsi que le chromosome 12 et 13 afin de rechercher les principales anomalies rencontrées dans la LLC à savoir : la délétion 17p, la délétion 11q, la trisomie 12 et la délétion 13q.

E. Statut mutationnel des IgVH

Trente-deux statuts mutationnels des IgVH ont été récupérés. La recherche du statut mutationnel avait été faite pour certains patients dans le cadre d'inclusion dans des essais cliniques/protocoles notamment SA2007, CLL2007 et CLL7. Des prélèvements sanguins avaient été réalisés et envoyés dans des centres agréés de biologie moléculaire hors CHU de

Nancy. A noter que le statut non muté des IgVH (UM) correspond à une homologie d'au moins 98%.

III. Tests statistiques utilisés

La comparaison des différentes variables avec les stades de Binet (A/B/C) a été réalisée selon le test du Chi-2 qui est issu d'une analyse de variance pour les variables quantitatives. Ce test a permis d'établir une comparaison statistiquement significative ou non entre les stades de Binet et les variables testées. Le test du coefficient de corrélation de Pearson a été utilisé pour établir une liaison à l'aide d'une droite linéaire entre le CD5 et d'autres variables (marqueurs diagnostiques et pronostiques). Plus le coefficient est proche des valeurs extrêmes, plus la corrélation entre les variables est forte ; par contre une corrélation égale à 0 signifie que les variables sont linéairement indépendantes. Enfin le test t de Bonferroni est un test de comparaison multiple qui a permis la comparaison des stades de Binet pris deux à deux avec les éléments ressortis statistiquement significatifs.

Résultats

I. Population étudiée

Nous avons pu inclure 769 patients. Le sex ratio est à 1,61 (figure 32) avec la répartition suivante : 293 femmes (38%) et 476 hommes (62%). L'âge moyen est 71 ans (29 ans-97 ans) (figure 33). Trois patients ont un âge inférieur ou égal à 40 ans.

La lymphocytose varie de 4,02G/L à 322,79 G/L. La moyenne est 26,71 G/L (figure 34). Nous avons pris un seuil de 4 G/L afin d'inclure un effectif plus large. Quarante et un patients ont une lymphocytose comprise entre 4 et 5 G/L et ne répondent donc pas rigoureusement aux critères diagnostiques de l'IWCLL (>5G/L).

II. Stade Binet

Le stade Binet a été récupéré pour 484 patients sur les 769 patients de notre étude (62,9%). Sa répartition dans notre effectif est la suivante (figure 35) :

- stade A : 347 patients soit 71,7%
- stade B : 67 patients soit 13,8%
- stade C : 70 patients soit 14,5%.

Les marqueurs décrits précédemment ont été étudiés pour chaque stade de Binet (tableau XIV). Il existe une différence significative globale de moyennes des différents paramètres comparés selon le stade de Binet (A/B/C). Il existe une relation statistiquement significative entre le stade Binet et les éléments suivants :

- la leucocytose en valeur absolue ($p<0,001$) avec une augmentation de ce nombre avec le stade de Binet. Plus le stade est évolué, plus le nombre de leucocytes est important. Le taux moyen de leucocytes des patients en stade A est significativement plus faible que pour les stades B et C ($p<0,05$). Par contre il n'y a pas de différence du taux de leucocytes entre le stade B et C ($p>0,05$).

- la lymphocytose en valeur absolue et en pourcentage ($p<0,001$) qui varie dans le même sens que les leucocytes avec un taux en G/L ou en % plus faible pour le stade A ($p<0,05$) que pour les stades B et C ($p>0,05$)

- la génétique avec les anomalies dites défavorables ($p=0,0165$). Ces anomalies défavorables (del17p, del11q) sont plus souvent rencontrées dans les stades avancés de la maladie et sont plus fréquentes dans les stades C.

- le CD3 en pourcentage ($p=0,0021$)

- le CD19 en pourcentage ($p<0,001$) qui est un marqueur pan-B et exprimé sur les cellules B de la LLC varie aussi avec augmentation de son % avec le stade.

- le CD5 en pourcentage ($p=0,0032$) a son expression qui varie aussi dans le même sens que le stade de Binet (plus le stade est élevé plus l'expression est importante)

- le CD79b en pourcentage ($p<0,001$) varie de la même façon que le CD5

- le CD38 en pourcentage (p<0,001) qui est un marqueur pronostique de la LLC qui induit la prolifération des lymphocytes B. Cette molécule est plus fortement exprimée dans les stades avancés de la maladie et de mauvais pronostic.
- le CD43 en pourcentage (p=0,0172) varie aussi dans le même sens, cette molécule étant aussi à la surface des cellules B de LLC.

Par contre il n'y a pas de relation significative entre le stade de Binet et les marqueurs suivants :

- le CD10 en pourcentage (p=0,4736)
- le CD23 en pourcentage (p=0,5071) et en IMF (p=0,6706)
- le FMC7 en pourcentage (p=0,2130) et en IMF (p=0,6316)
- le CD20 en pourcentage (p=0,0769) et en IMF (p=0,0814)
- le CD22 en pourcentage (p=0,3376) et en IMF (p=0,9475)
- les chaînes légères des Ig kappa en pourcentage (p=0,8427) et en IMF (p=0,5637)
- les chaînes légères des Ig lambda en pourcentage (p=0,6132) et en IMF (p=0,4517)

III. Résultats concernant la molécule CD5 en fonction des différents paramètres diagnostiques et pronostiques

Nous nous sommes intéressés plus spécialement à la molécule CD5 en particulier à la relation statistique éventuelle entre son expression en IMF et la lymphocytose (G/L), le stade de Binet et les autres paramètres diagnostiques et pronostiques suivants : l'immunophénotypage (CD19, CD20, CD22, CD23, CD38, CD43, CD79b, FMC7, chaînes légères kappa, lambda), la génétique, le statut mutationnel (tableau XV). Les valeurs en pourcentage du CD5 varient de 20 à 100 % de la population lymphoïde avec une moyenne de 78,2% (figure 36); en IMF de 19 à 1659 avec une moyenne de 270 (figure 37). Nous avons ensuite regardé la distribution de l'IMF pour chaque stade de Binet (figures 38 à 40) puis la

médiane, le maximum, le minimum ainsi que les 1^{ier} et 3ème quartiles du CD5 en IMF (figure 41) afin de comparer ces valeurs aux différents stades de la maladie.

- la médiane pour les 3 stades de la maladie sont respectivement : 225 pour le stade A, 196 pour le stade B et 262 pour le stade C,
- le maximum en valeur de IMF pour le CD5 est : 1136 pour le stade A, 1059 pour le stade B et 1659 pour le stade C,
- le minimum en valeur de IMF pour le CD5 est : 22 pour le stade A, 32 pour le stade B et 29 pour le stade C,
- le premier quartile est : 124,5 pour le stade A, 146 pour le stade B et 147 pour le stade C,
- le troisième quartile est : 372,5 pour le stade A, 385 pour le stade B et 412 pour le stade C.

Ces différences sont non significatives.

Nous avons étudié par ailleurs la relation entre le CD5 en IMF et les autres marqueurs par le test du coefficient de corrélation de Pearson (r). Ceux pour qui il existe une relation significative avec le CD5 sont (figures 42 à 45) :

- le nombre de leucocytes en G/L (r=0,08 et p=0,0339)
- le nombre de lymphocytes en G/L (r=0,07 et p=0,0430)
- le CD23 en IMF (r=0,26 et p<0,0001)
- le CD38 en IMF (r=0,19 et p=0,0016)
- le CD43 en IMF (r=0,40 et p<0,0001)

Ceux pour qui il n'existe pas de relation significative statistiquement avec le CD5 en MFI sont :

- la génétique (r=-0,15 et p=0,1716)
- le CD19 en IMF (r=-0,28 et p=0,2713)
- le CD20 en IMF (r=0,07 et p=0,1000)

- le CD22 en IMF(r=0,08 et p=0,1548)
- le CD79b en IMF (r=-0,08 et p=0,1834)
- le FMC7 en IMF(r=0,05 et p=0,4287)
- les chaînes légères kappa en IMF (r=0,04 et p=0,3537)
- les chaînes légères lambda en IMF (r=0,06 et p=0,3383)

IV. Statut mutationnel des IgVH

Le statut mutationnel des 32 patients que nous avons pu récupérer est réparti comme suit :

la moitié des patients soit 16 patients ont un statut muté et 16 patients un statut non muté.

Sur ces 32 patients, le stade de Binet a pu être calculé pour 22 d'entre eux avec la répartition suivante (figure 46) :

- 16 stades A (72,7%) avec 9 mutés (56%) et 7 non mutes (44%)
- 4 stades B (20%) avec 4 non mutés (100%)
- 2 stades C (10%) avec un muté (50%) et un non muté (50%)

L'expression du CD5 (IMF) pour les statuts mutés et non mutés est donnée figure 47. Les patients ayant un statut muté présentent des valeurs de CD5 en IMF supérieures en terme de médiane (319 vs 294), de premier quartile (189,5 vs 166) et troisième quartile (449,75 vs 404,5) par rapport au statut non muté mais la différence reste non significative (p=0,08) en raison d'un effectif trop faible qui induit une puissance trop limite.

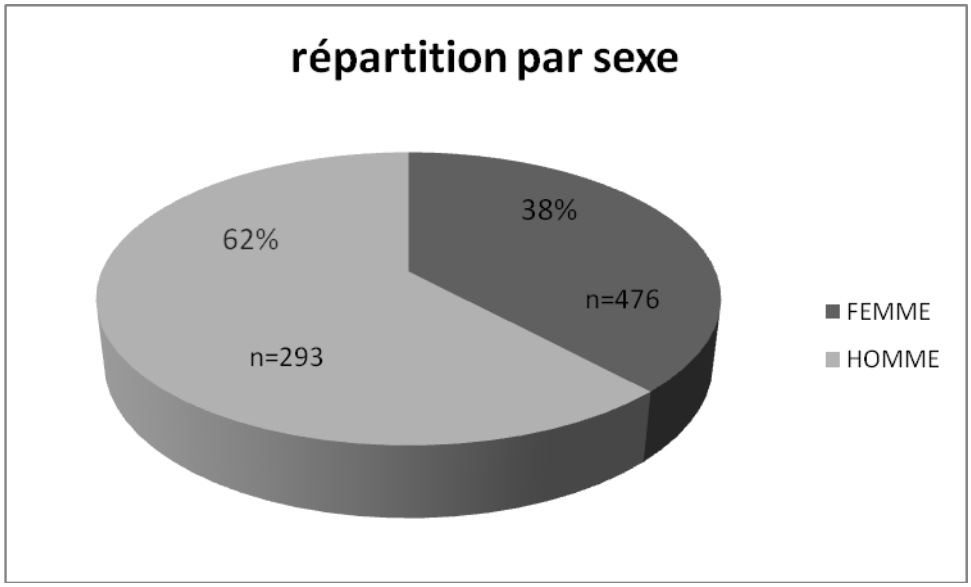


Figure 32. Représentation de la répartition par sexe de notre cohorte

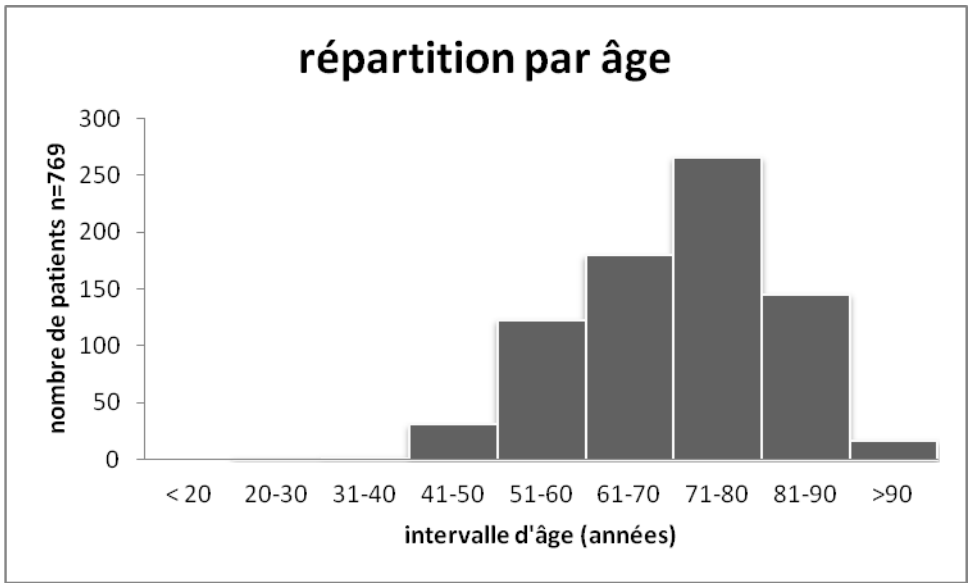


Figure 33. Représentation de la répartition par âge au diagnostic

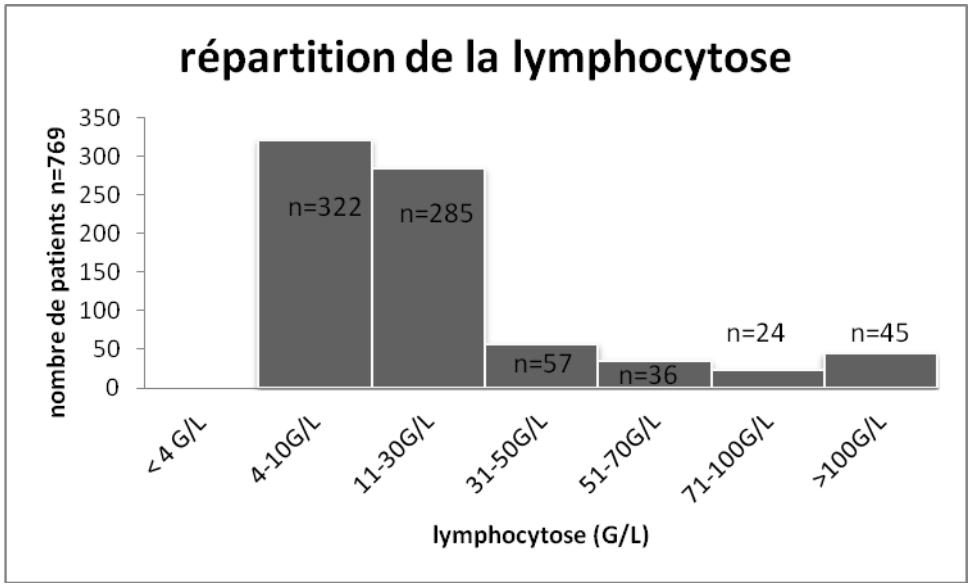


Figure 34. Représentation de la répartition de la lymphocytose (G/L) au diagnostic

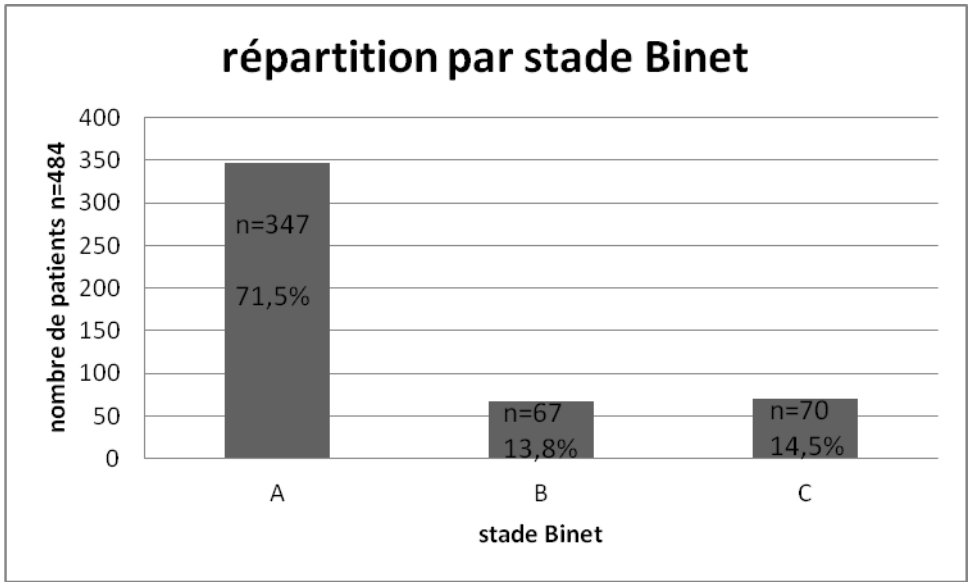


Figure 35. Représentation de la répartition du stade de Binet au diagnostic

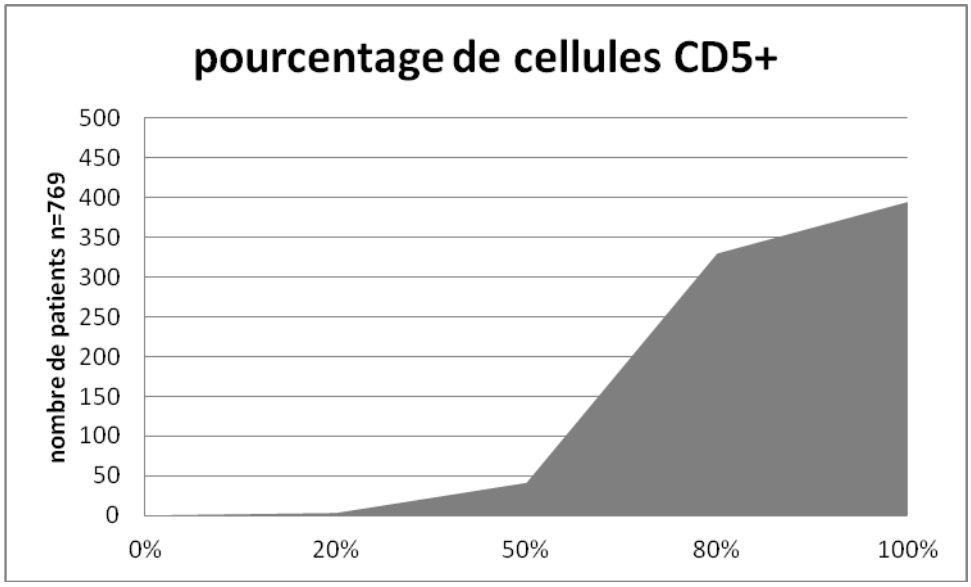


Figure 36. Représentation de la répartition de l'expression de CD5 (en %) dans notre cohorte

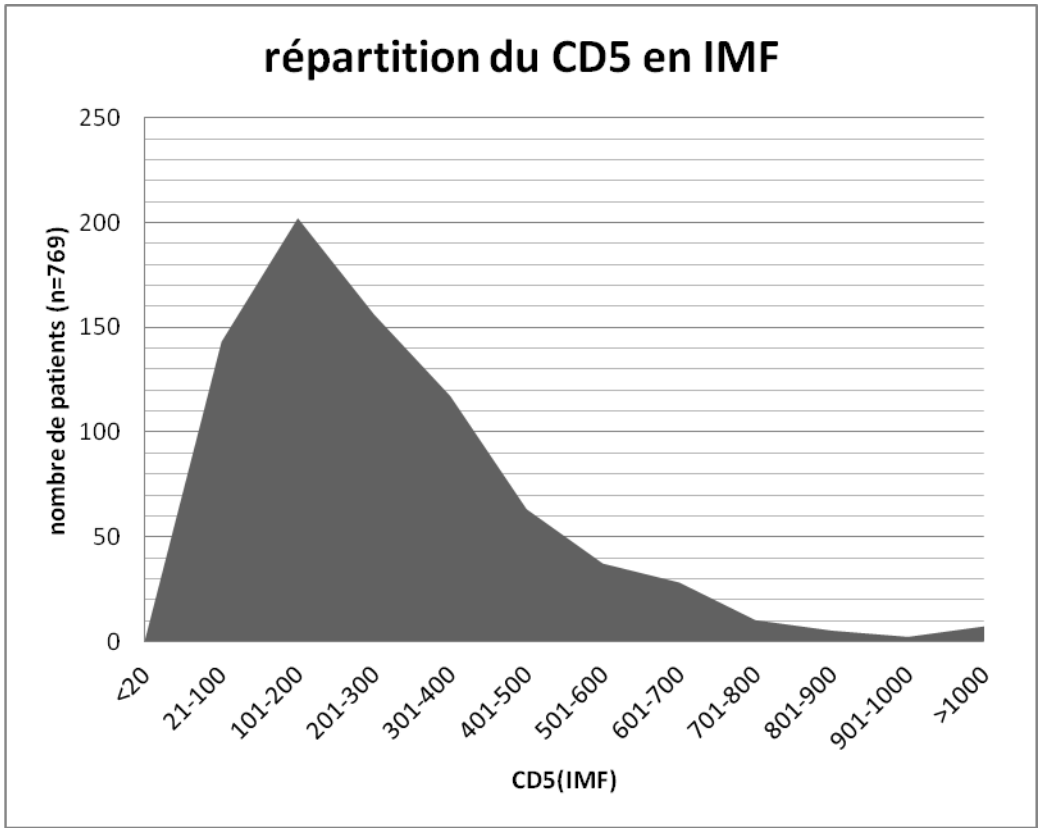


Figure 37. Représentation de la répartition de l'expression de CD5 (IMF) dans notre cohorte

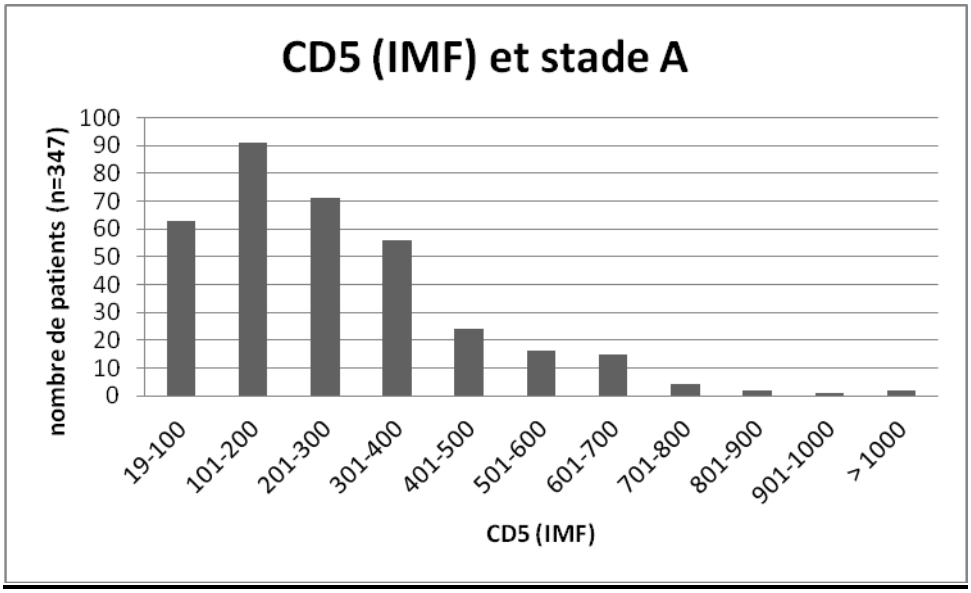


Figure 38. Représentation de la répartition de l'expression de CD5 (IMF) chez les patients en stade A de Binet

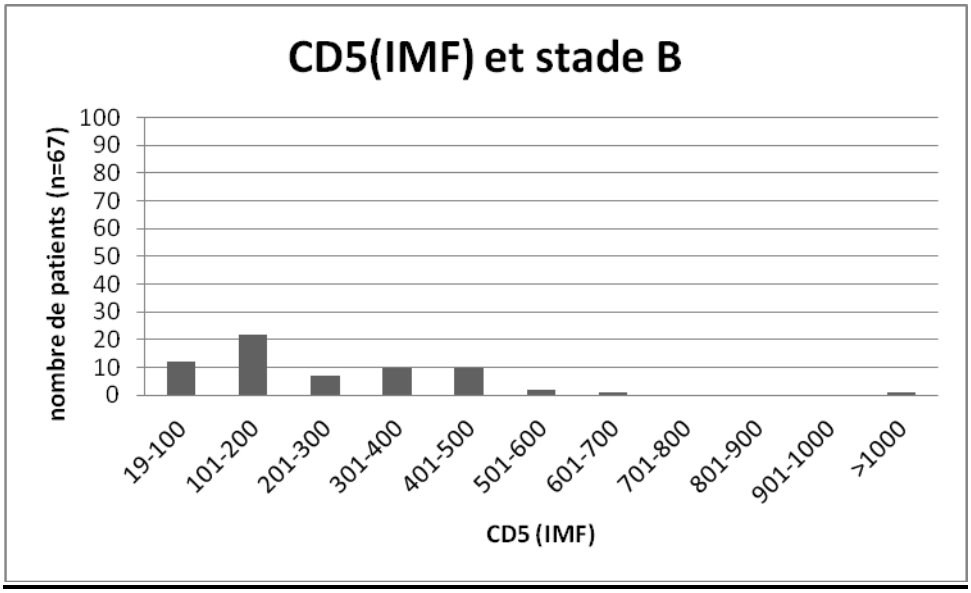


Figure 39. Représentation de la répartition de l'expression de CD5 (IMF) chez les patients en stade B de Binet

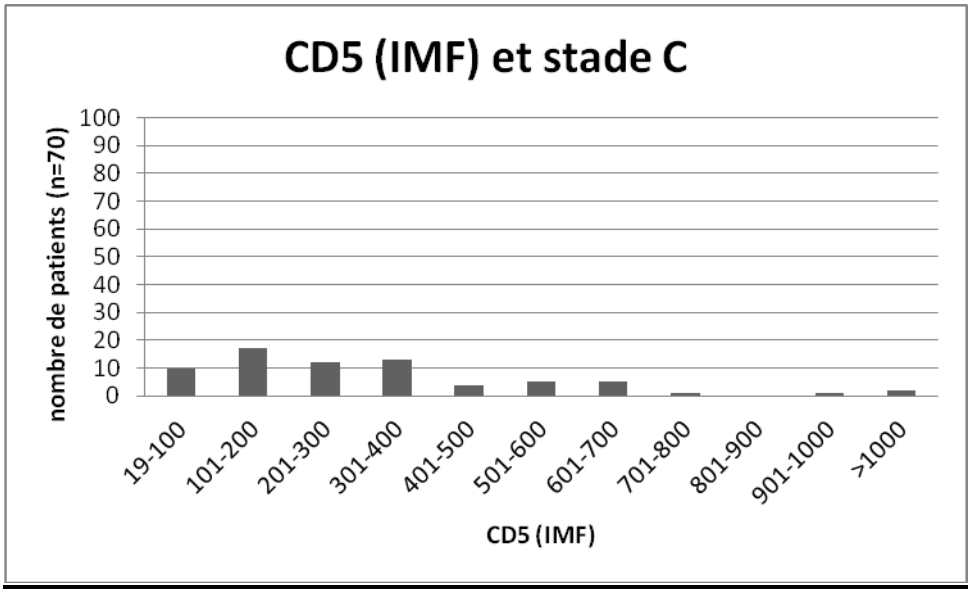


Figure 40. Représentation de la répartition de l'expression de CD5 (IMF) chez les patients en stade C de Binet

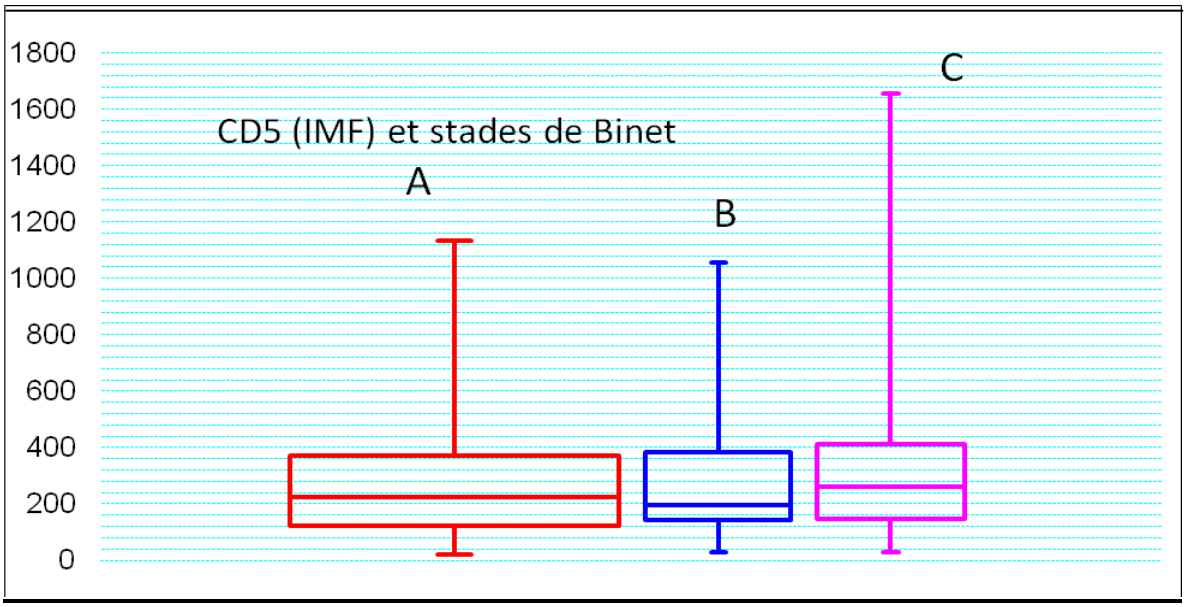


Figure 41. Représentation en boîtes à moustache des différentes valeurs (moyenne, quartiles 1 et 3, médiane, maximum et minimum) en IMF de CD5 en fonction du stade de Binet

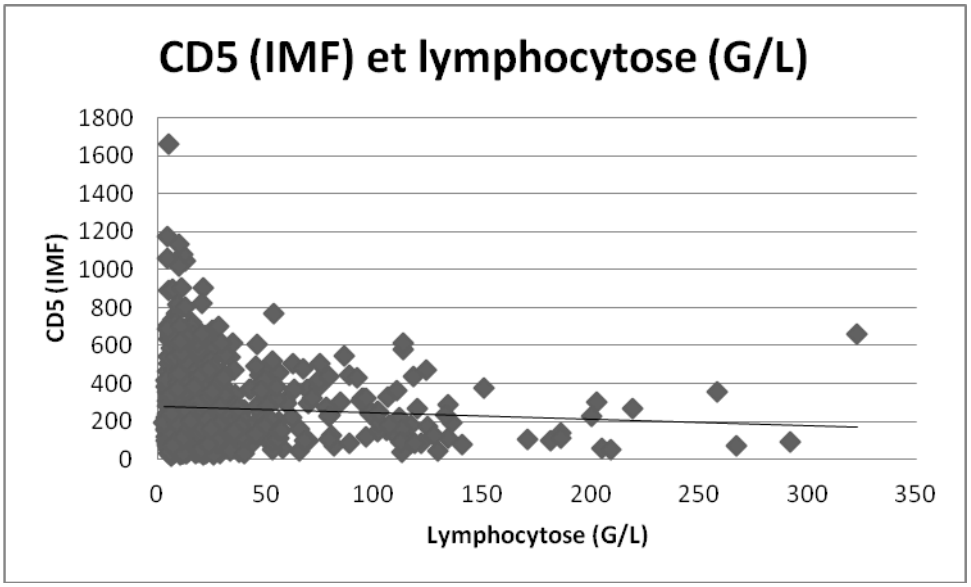


Figure 42. Représentation de la relation statistique entre l'expression de CD5 (IMF) et la lymphocytose (G/L) (p=0,0430)

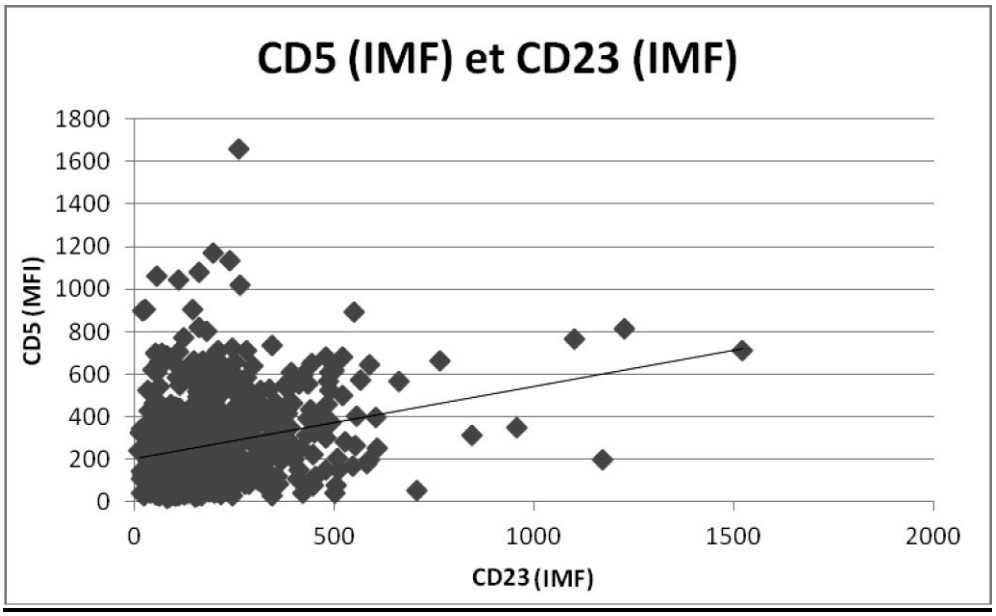


Figure 43. Représentation de la relation statistique entre l'expression de CD5 (IMF) et l'expression de CD23 (IMF) (p<0,0001)

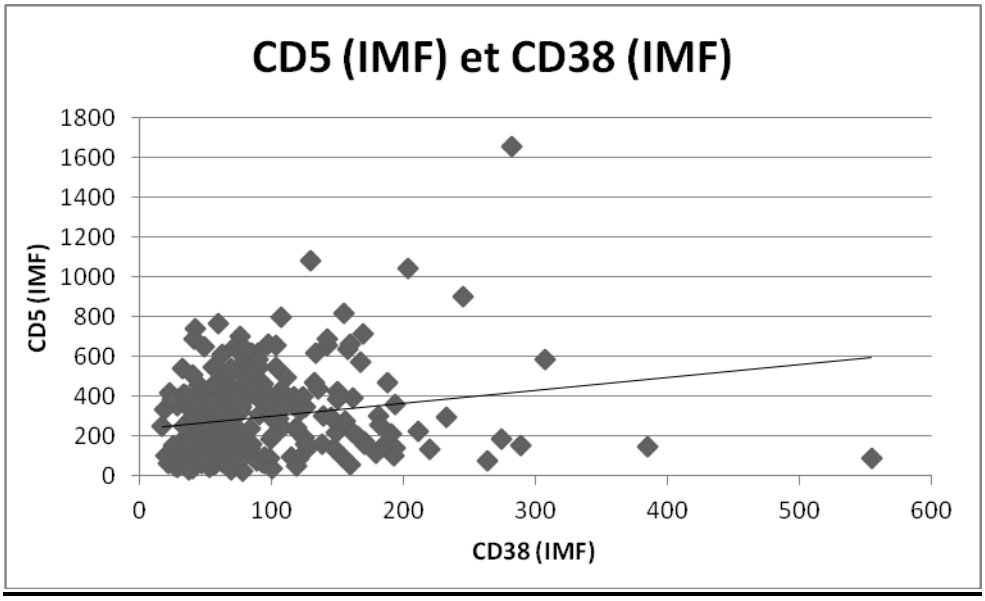


Figure 44. Représentation de la relation statistique de l'expression de CD5 (IMF) et l'expression de CD38 (IMF) (p=0,0016)

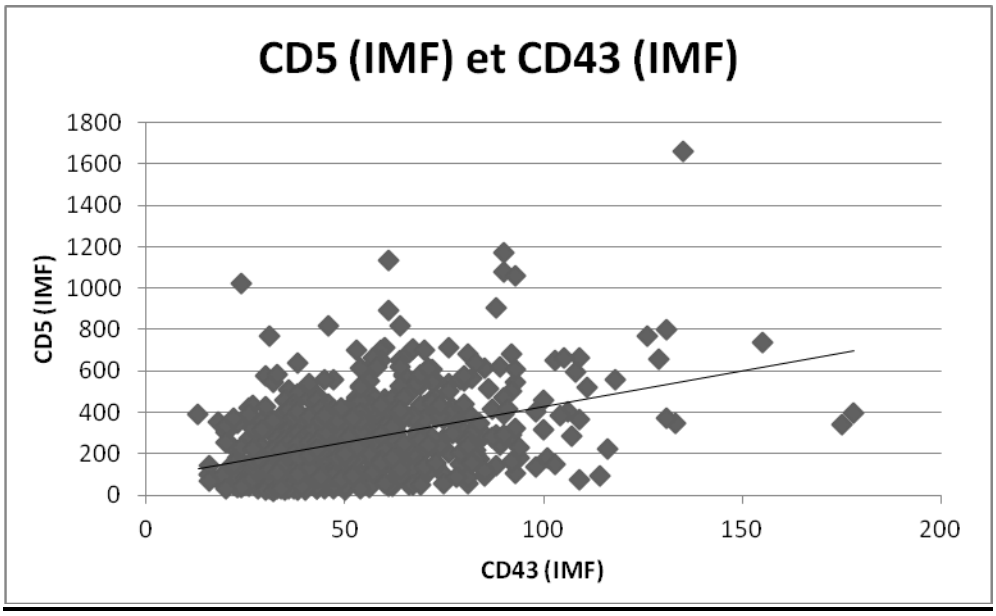


Figure 45. Représentation de la relation statistique entre l'expression de CD5 (IMF) et l'expression de CD43 (IMF) (p<0,0001)

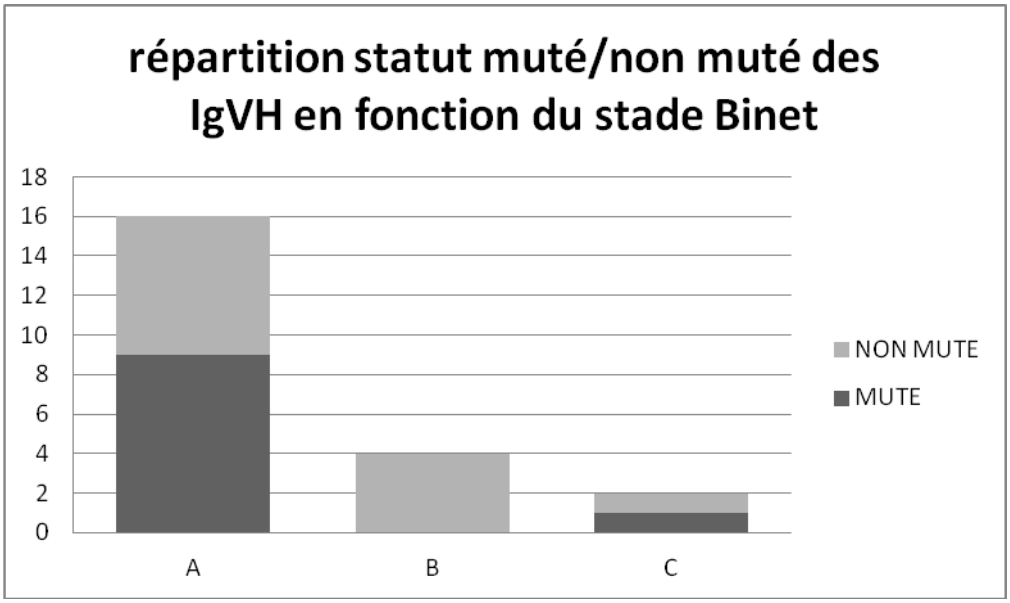


Figure 46. Représentation de la répartition des statuts mutés et non muté par stade de Binet

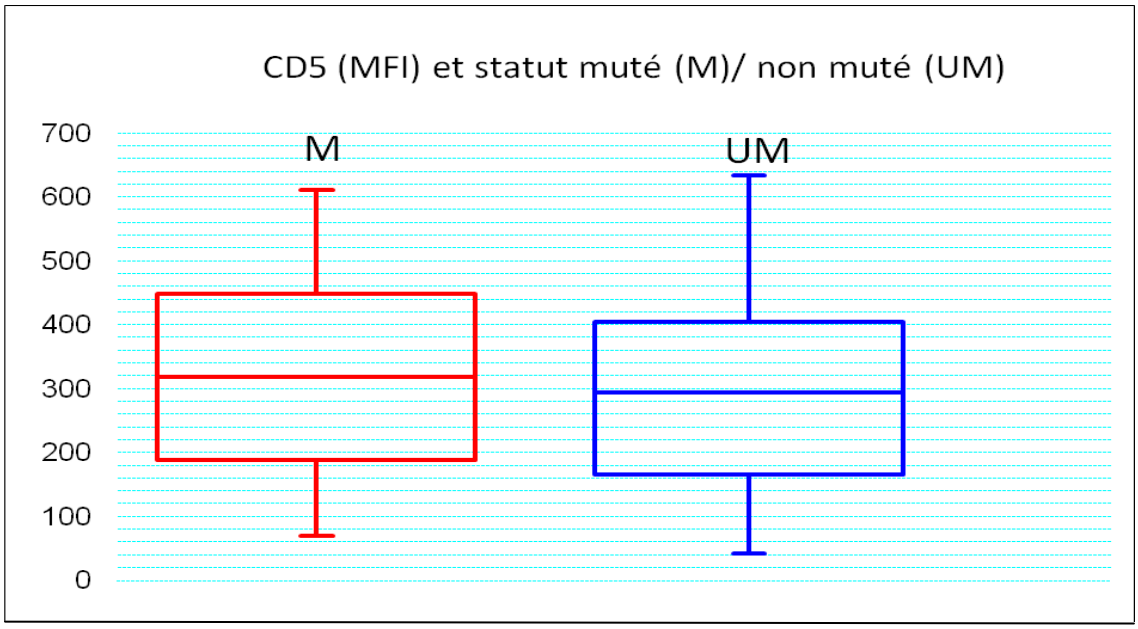


Figure 47. Représentation en boîtes à moustache de l'expression de CD5 (IMF) en fonction du statut mutationnel (M=muté et UM=non muté) (p=0,08)

MARQUEURS	*MINI*	*MAX*	*MEDIANE*	*ET*	*P*
Leucocytes (G/L)	*5*	*332,7*	*19,5*	*39,2*	*<0,0001*
Lymphocytes (%)	*7*	*100*	*70*	*16,8*	*<0,0001*
Lymphocytes (G/L)	*4,02*	*322,7*	*12,8*	*37,5*	*<0,0001*
Génétique					*0,0165*
CD3 (%)	*0*	*70*	*10*	*10*	*0,0021*
CD19 (%)	*20*	*100*	*80*	*10*	*<0,0001*
CD5 (%)	*20*	*100*	*80*	*20*	*0,0032*
CD38 (%)	*0*	*100*	*0*	*30*	*<0,0001*
CD79b (%)	*0*	*100*	*0*	*40*	*<0,0001*
CD43 (%)	*0*	*100*	*80*	*30*	*0,0172*
CD10 (%)	*0*	*50*	*0*	*0*	*0,4736*
CD20 (%)	*0*	*100*	*80*	*20*	*0,0769*
CD20 (IMF)	*11*	*3473*	*80*	*360,7*	*0,0814*
CD22 (%)	*0*	*100*	*0*	*40*	*0,3376*
CD22 (IMF)	*0*	*57*	*11*	*8,2*	*0,9475*
CD23 (%)	*0*	*100*	*80*	*20*	*0,5071*
CD23 (IMF)	*12*	*1521*	*149*	*152,3*	*0,6706*
FMC7 (%)	*0*	*100*	*0*	*30*	*0,213*
FMC7 (IMF)	*0*	*635*	*34*	*75,2*	*0,6316*
kappa (IMF)	*5*	*592*	*23*	*53,8*	*0,5637*
lamba (IMF)	*0*	*1702*	*55*	*152,2*	*0,4517*
CD5 (IMF)	*19*	*1659*	*225*	*196,1*	*0,0856*
CD38 (IMF)	*17*	*555*	*66,5*	*63,7*	*0,0906*
CD43 (IMF)	*13*	*178*	*49*	*22,2*	*0,1192*
CD79b (IMF)	*8*	*1603*	*58*	*185,5*	*0,2642*

Tableau 14. Relation entre les marqueurs étudiés et le stade de Binet

ET : écart-type ; IMF : intensité moyenne de fluorescence ; p significatif quand <0,05

MARQUEURS	*Coef de corrélation*	*P*
Leucocytose (G/L)	*0,08*	*0,0339*
Lymphocytose (G/L)	*0,07*	*0,0419*
CD23 (IMF)	*0,26*	*0,0000*
CD38 (IMF)	*0,19*	*0,0016*
CD43 (IMF)	*0,40*	*0,0000*
Génétique	*-0,15*	*0,1716*
CD19 (IMF)	*-0,28*	*0,2713*
CD20 (IMF)	*0,07*	*0,1000*
CD22 (IMF)	*0,08*	*0,1548*
CD79b (IMF)	*-0.08*	*0,1834*
FMC7 (IMF)	*0,05*	*0,4287*
kappa (IMF)	*0,04*	*0,3537*
lambda (IMF)	*0,06*	*0,3383*

Tableau 15. Relation entre l'expression de CD5 et les autres marqueurs étudiés

(p significatif quand <0,05)

Discussion

L'étude que nous avons réalisée a permis d'analyser les données d'une cohorte de patients porteurs d'une LLC et d'investiguer de manière homogène dans un même laboratoire par le Dr Lesesve. Concernant cette population, le sex ratio et l'âge moyen reflètent la répartition classique de la maladie avec une légère prédominance masculine et surtout un diagnostic établi tardivement avec une moyenne d'âge proche de 70 ans. Il existe de rares formes chez les patients jeunes, c'est le cas pour trois patients de notre étude qui ont un âge inférieur ou égal à 40 ans ; deux patients ont 40 ans et une patiente a 29 ans au moment du diagnostic. Quelques études ont décrit des cas de patients jeunes (entre 30 et 40 ans) présentant une LLC (212,213) mais seule 10% de la population a moins de 50 ans. La survenue d'une LLC chez un patient de moins de 30 ans reste néanmoins exceptionnellement décrite dans la littérature.

Le stade A apparaît majoritaire avec plus de 2/3 des patients. La LLC est le plus souvent diagnostiquée au stade A c'est-à-dire au stade le moins avancé avec une découverte souvent fortuite sur NFS réalisée de façon systématique ou pour le suivi d'une autre pathologie (plus de la moitié des patients sont asymptomatiques au moment du diagnostic). Presque 80% des patients nouvellement diagnostiqués sont en stade A (52). Une large étude prospective française de 935 malades qui comparait la classification de Rai et celle de Binet, a montré que les patients en stade A de Binet correspondaient à 63% des patients, le stade B à 30% des patients et le groupe C à 7% (214). Notre série reflète les données connues avec une majorité de stade A. Par contre nous avons une proportion de stades B et C quasi-identiques.

En ce qui concerne les valeurs biologiques, nous constatons que la lymphocytose est proportionnelle aux stades de Binet et donc à l'évolution de la maladie. La lymphocytose reflète le caractère évolutif de la maladie et donc est liée au stade de Binet. Plus la lymphocytose est importante, plus le risque d'infiltration médullaire et de prolifération est importante, plus il y a de risque de cytopénies et de passage en stade C.

En ce qui concerne la génétique, nous savons maintenant qu'il existe deux grands groupes pronostiques en fonction des anomalies cytogénétiques rencontrées, à savoir la délétion 17p

(qui touche le gène p53) et la délétion 11q (qui touche le gène ATM) qui sont de très mauvais pronostic et qui sont recherchés de façon systématique par FISH avant toute décision thérapeutique et les autres anomalies avec la trisomie 12, la délétion 13q qui sont de bon pronostic (82). La génétique semble liée d'une certaine mesure au stade de Binet, les malades qui évoluent rapidement vers un stade C ont souvent une cytogénétique défavorable (délétion 17p, délétion 11q) avec réévolution rapide après traitement et/ou résistance à la chimiothérapie. Ces anomalies cytogénétiques sont des marqueurs de mauvais pronostic avec évolution rapide (vers un stade avancé).

L'expression des marqueurs CD19 et CD5 est également corrélée au stade de Binet, ces marqueurs sont retrouvés dans le score de Matutes et donc exprimés à la surface des lymphocytes de LLC (16). Ainsi, ayant vu plus haut que la lymphocytose est liée au stade de Binet de façon statistiquement significative, il apparaît logique que les marqueurs exprimés sur les clones malades ont également une relation statistique avec. Comme décrit précédemment où il avait mis en évidence une relation statistique entre le stade de Binet et la lymphocytose, nous pouvons remarquer de façon logique que la lymphocytose augmente avec le stade de Binet en sachant que ce taux n'est pas significativement différent pour les stades dits évolués (B et C) mais est plus faible pour les stades A.

Le CD38 est un facteur pronostic de la LLC mais il apparaît dans plusieurs études comme facteur complètement indépendant (215), il ne semble donc pas être en relation avec le stade de Binet.

Nous avons ensuite recherché une relation statistique entre la molécule CD5 et les autres marqueurs décrits précédemment :

- Le nombre de **leucocytes** et de **lymphocytes** en valeur absolue d'un patient est corrélé à l'expression du CD5 en IMF au niveau du clone malade chez ce patient ; nous avons vu plus haut que le CD5 était l'un des marqueurs principaux du score de Matutes et donc présent sur les cellules de LLC raison pour laquelle son taux varie dans le même sens que celui des lymphocytes.

- **CD38** est un marqueur pronostique indépendant de la maladie mais il existe une relation statistiquement significative avec l'expression CD5 d'où la possibilité que CD5 pourrait être également lié au pronostic de la maladie.

- **CD23** appartient au score de Matutes au même titre que CD5, il apparaît donc logique qu'il existe une relation statistique entre ces marqueurs.

- **CD43** protéine de surface qui apparaît au stade de différenciation pro-B des LB a été étudiée dans un article polonais de Rolinski J et al en 1999 qui a prouvé l'existence de CD43 sur les cellules B de LLC dans le sang périphérique. Il peut donc avoir également un lien entre les deux molécules.

- **Le stade de Binet** a également été analysé avec des caractéristiques propres à chaque stade en terme d'expression du CD5 grâce à la méthode statistique de Bonferroni. Le CD5 en pourcentage est significativement plus faible pour les patients en stade A qu'en stade C alors qu'il n'y a pas de différence significative entre les stades B et C ; CD5 semble avoir la même relation que la lymphocytose avec le stade de Binet, les stades A ont une expression de CD5 plus faible. Nous pouvons émettre l'hypothèse que les patients de stade A présentant un pourcentage de CD5 élevé seraient plus à risque d'évoluer vers une maladie rapidement agressive mais cela reste à prouver avec une étude prospective. Nous avons calculé pour chaque stade de Binet la médiane, le maximum, le minimum, le premier et troisième quartile de l'intensité de fluorescence de CD5, on remarque que la médiane n'est pas très différente entre les 3 stades avec néanmoins une médiane un peu plus haute pour les stades C. Les valeurs minimales sont sensiblement identiques ; pour ce qui est des valeurs maximales, le stade C se détache avec une valeur du maximum supérieure. L'interprétation est cependant délicate compte tenu de la différence d'effectifs entre les différents stades de Binet avec un stade A beaucoup plus représenté. Ces valeurs ne semblent pas se détacher pour un des stades de façon significative. Une explication possible de ces résultats non significatifs serait la fluctuation des IMF du CD5 chez un même patient. Effectivement, nous avons repris les dossiers de 8 patients qui avaient une expression de CD5 très élevée initialement pour qui un deuxième immunophénotypage a été réalisée qui montrait un taux beaucoup plus faible. Un contrôle des valeurs extrêmes a été réalisé quasi-constamment et ces patients restent rares cependant. Le FMC7 et les chaînes légères des Ig sont absents

ou présents à très faible pourcentage sur les clones malins, leurs taux ne sont pas liés à l'évolution de la maladie et au stade de Binet.

D'autres marqueurs plus récents caractérisent des groupes de malades répondant plus ou moins bien aux traitements ou rechutant plus ou moins rapidement.

- **Le statut mutationnel des IgVH** n'est pas recherché en pratique courante en raison d'une faisabilité limitée mais il a été montré leur intérêt dans le pronostic de la maladie (62,63). Nous pouvons remarquer presque autant de statuts mutés (56%) que de non mutés (44%) dans les stades A (est-ce une distinction entre des stades A dits "de bon pronostic" avec le statut muté et ceux dits "de mauvais pronostic" avec le statut non muté ?). Le stade B ne contient que des statuts non mutés (100%) (mais l'effectif reste faible avec seulement 4 patients) et le stade C qui ne représente également qu'une infime partie de la population étudiée contient à égalité un statut muté (50%) et un statut non muté (50%). Il semble se dégager toutefois une prédominance de statuts non mutés dans les stades « avancés » de la maladie avec néanmoins un taux non négligeable de patients non mutés pour le stade A (45%) qui pourrait correspondre aux patients de mauvais pronostic avec maladie agressive pour qui un traitement dès le stade A serait à envisager par exemple mais cela reste encore à confirmer sur de plus grands effectifs et sur du prospectif. D'après nos résultats, les valeurs de CD5 en IMF sont plus importantes pour les stades avancés de la maladie et donc pour les maladies plus agressives et de moins bon pronostic. Cette observation concernant les statuts mutationnels semble un peu contradictoire avec tout ce qui a été vu plus haut puisque nous trouvons des valeurs en IMF de CD5 supérieures pour les malades dits de bon pronostic c'est-à-dire muté par rapport aux non-mutés qui présentent des valeurs plus faibles. Malheureusement notre effectif était trop faible avec une puissance du test statistique diminuée et donc un p non significatif pour la relation CD5/ statut mutationnel. Il conviendrait également de reconsidérer ses résultats avec un effectif plus important.

Les premiers résultats statistiques obtenus au début de ce travail concernant la relation entre l'expression de la molécule CD5 en IMF et les autres marqueurs diagnostiques et pronostiques de la maladie nous encourageaient à penser que la

molécule CD5 pouvait avoir un impact diagnostique dans la sévérité et l'évolutivité de la maladie au même titre que le stade de Binet la cytogénétique devant sa relation significative avec la lymphocytose, le stade de Binet ou le CD38. Effectivement, l'expression de CD5 semble augmenter avec la gravité de la maladie mais cette expression est continue, l'utilisation de CD5 comme marqueur pronotisque ne peut donc pas s'envisager. Les derniers résultats sur l'ensemble des données sont un peu "décevants" notamment en ce qui concerne la relation de CD5 avec le statut mutationnel qui n'est pas significative mais cela mériterait de reconsidérer ces résultats avec une étude prospective. Ainsi, l'intérêt d'une recherche de l'expression de CD5 en IMF n'est pas à l'heure actuelle retenu pour caractériser une maladie évolutive mais d'autres études avec un effectif plus grand seraient intéressantes pour compléter la notre. En ce qui concerne la recherche de l'expression du CD5, étant donné la présence de cette molécule dans le score de Matutes, elle est recherchée de façon systématique en immunophénotypage et il apparaît donc facile et peu coûteux en pratique courante d'avoir accès aux résultats concernant cette expression.

CONCLUSION GENERALE

La leucémie lymphoïde chronique est l'hémopathie maligne la plus fréquente dans les pays occidentaux et touche une population âgée. Elle correspond à la prolifération/accumulation de cellules B $CD5^+$ qui sont bloquées en phase 0 du cycle cellulaire secondaire à une altération de leur mort cellulaire par anomalie de la voie apoptotique et par des signaux qui inhibent l'apoptose avec un rôle certain de la molécule CD5 dans cette inhibition. La molécule CD5 est une glycoprotéine transmembranaire présente sur tous les lymphocytes T et une partie des lymphocytes B qui joue un rôle dans l'anergie des lymphocytes.

Cette molécule est importante dans le diagnostic immunophénotypique de la LLC et nous avons voulu voir si l'expression de CD5 pouvait être corrélée au stade de la maladie et à son pronostic. Il apparaît clairement de façon significative que l'expression de CD5 est plus forte pour les stade avancées de la maladie, de même cette expression varie dans le même sens que la leucocytose et la lymphocytose ce qui peut amener à dire que l'expression de CD5 est le reflet d'une maladie évolutive et agressive. De même il existe une corrélation entre l'expression de CD5 et l'expression d'autres marqueurs pronostiques tels que CD38, CD23. Toutefois, notre effectif peu important pour l'étude du statut mutationnel nous empêche de conclure du fait d'un manque de puissance de nos tests. D'autres études avec un effectif plus grand, prospectives et comparant d'autres marqueurs pronostiques (TDL, B2microglobuline, Thymidine kinase, …) sont nécessaires pour conforter ces premiers résultats.

BIBLIOGRAPHIE

1. Binet JL, hospitalier Pitié-Salpêtrière G. Cinq histoires de leucémie lymphoïde chronique. Hématologie (editorial). 2006 déc;12:2–3.

2. Triadou P. Quelques éléments d'histoire de l'hématologie biologique. Annales de Biologie Clinique. 2000.

3. Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. Blood. 2006 janv 1;107(1):265–76.

4. Wu S-J, Huang S-Y, Lin C-T, Lin Y-J, Chang C-J, Tien H-F. The incidence of chronic lymphocytic leukemia in Taiwan, 1986-2005: a distinct increasing trend with birth-cohort effect. Blood. 2010 nov 25;116(22):4430–5.

5. Blair A, Purdue MP, Weisenburger DD, Baris D. Chemical exposures and risk of chronic lymphocytic leukaemia. Br. J. Haematol. 2007 déc;139(5):753–61.

6. Tegg EM, Thomson RJ, Stankovich J, Banks A, Flowers C, McWhirter R, et al. Evidence for a common genetic aetiology in high-risk families with multiple haematological malignancy subtypes. Br. J. Haematol. 2010 août;150(4):456–62.

7. Goldin LR, Slager SL. Familial CLL: Genes and Environment. ASH Education Program Book. 2007 janv 1;2007(1):339 –345.

8. Raval A, Tanner SM, Byrd JC, Angerman EB, Perko JD, Chen S-S, et al. Downregulation of death-associated protein kinase 1 (DAPK1) in chronic lymphocytic leukemia. Cell. 2007 juin 1;129(5):879–90.

9. Di Bernardo MC, Crowther-Swanepoel D, Broderick P, Webb E, Sellick G, Wild R, et al. A genome-wide association study identifies six susceptibility loci for chronic lymphocytic leukemia. Nat Genet. 2008 oct;40(10):1204–10.

10. Foon KA, Hallek MJ. Changing paradigms in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. Leukemia. 2010 mars;24(3):500–11.

11. Thomas R, Ribeiro I, Shepherd P, Johnson P, Cook M, Lakhani A, et al. Spontaneous clinical regression in chronic lymphocytic leukaemia. British Journal of Haematology. 2002 févr 1;116(2):341–5.

12. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner 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 juin 15;111(12):5446 –5456.

13. Johansson P, Eisele L, Klein-Hitpass L, Sellmann L, Dührsen U, Dürig J, et al. Percentage of smudge cells determined on routine blood smears is a novel prognostic factor in chronic lymphocytic leukemia. Leuk. Res. 2010 juill;34(7):892–8.

14. Nowakowski GS, Hoyer JD, Shanafelt TD, Zent CS, Call TG, Bone ND, et al. Percentage of Smudge Cells on Routine Blood Smear Predicts Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia. Journal of Clinical Oncology. 2009 avr 10;27(11):1844 –1849.

15. Landgren and al. O. B-Cell Clones as Early Markers for Chronic Lymphocytic Leukemia. N. Engl. J. Med. 2009 févr 12;360(7):659–67.

16. 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 oct;8(10):1640–5.

17. 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). American journal of clinical pathology. 108(4):378–82.

18. Delespesse G, Suter U, Mossalayi D, Bettler B, Sarfati M, Hofstetter H, et al. Expression, Structure, and Function of the CD23 Antigen. Advances in Immunology [Internet]. Academic Press; 1991 [cité 2012 mai 16]. p. 149–91. Available de: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065277608607762

19. Nitschke L. The role of CD22 and other inhibitory co-receptors in B-cell activation. Current Opinion in Immunology. 2005 juin;17(3):290–7.

20. Ginaldi L, De Martinis M, Matutes E, Farahat N, Morilla R, Catovsky D. Levels of Expression of CD19 and CD20 in Chronic B Cell Leukaemias. J Clin Pathol. 1998 janv 5;51(5):364–9.

21. Delgado J, Matutes E, Morilla AM, Morilla RM, Owusu-Ankomah KA, Rafiq-Mohammed F, et al. Diagnostic Significance of CD20 and FMC7 Expression in B-Cell Disorders. AJCP. 2003 janv 11;120(5):754–9.

22. Deans JP, Polyak MJ. FMC7 is an epitope of CD20. Blood. 2008;111(4):2492–2492.

23. Almasri NM, Duque RE, Iturraspe J, Everett E, Braylan RC. Reduced expression of CD20 antigen as a characteristic marker for chronic lymphocytic leukemia. American Journal of Hematology. 1992 août 1;40(4):259–63.

24. Beum PV, Kennedy AD, Williams ME, Lindorfer MA, Taylor RP. The Shaving Reaction: Rituximab/CD20 Complexes Are Removed from Mantle Cell Lymphoma and Chronic Lymphocytic Leukemia Cells by THP-1 Monocytes. J Immunol. 2006 févr 15;176(4):2600–9.

25. Rozman C, Bosch F, Montserrat E. Chronic lymphocytic leukemia: a changing natural history? Leukemia. 1997 déc 18;11(6):775–8.

26. Pangalis GA, Vassilakopoulos TP, Dimopoulou MN, Siakantaris MP, Kontopidou FN, Angelopoulou MK. B-chronic lymphocytic leukemia: practical aspects. Hematological Oncology. 2002 sept 1;20(3):103–46.

27. Tsimberidou A, Keating MJ. Richter syndrome. Cancer. 2005 janv 15;103(2):216–28.

28. Rasi S, Spina V, Bruscaggin A, Vaisitti T, Tripodo C, Forconi F, et al. A variant of the LRP4 gene affects the risk of chronic lymphocytic leukaemia transformation to Richter syndrome. Br. J. Haematol. 2011 févr;152(3):284–94.

29. Rossi D, Spina V, Deambrogi C, Rasi S, Laurenti L, Stamatopoulos K, et al. The genetics of Richter syndrome reveals disease heterogeneity and predicts survival after transformation. Blood. 2011 mars 24;117(12):3391 –3401.

30. Aydin S, Rossi D, Bergui L, D'Arena G, Ferrero E, Bonello L, et al. CD38 gene polymorphism and chronic lymphocytic leukemia: a role in transformation to Richter syndrome? Blood. 2008 juin 15;111(12):5646 –5653.

31. Hodgson K, Ferrer G, Montserrat E, Moreno C. Chronic lymphocytic leukemia and autoimmunity: a systematic review. Haematologica. 2011 mai;96(5):752–61.

32. 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 déc 2;116(23):4771 –4776.

33. Michallet A-S, Rossignol J, Cazin B, Ysebaert L. Rituximab–cyclophosphamide–dexamethasone combination in management of autoimmune cytopenias associated with chronic lymphocytic leukemia. Leukemia & Lymphoma. 2011 juill;52(7):1401–3.

34. Wadhwa PD, Morrison VA, others. Infectious complications of chronic lymphocytic leukemia. Seminars in oncology. 2006. p. 240–9.

35. Morra E, Nosari A, Montillo M. Infectious complications in chronic lymphocytic leukaemia. Hematology and Cell Therapy. 1999 août;41(4):145–51.

36. Anaissie EJ, Kontoyiannis DP, O'Brien S, Kantarjian H, Robertson L, Lerner S, et al. Infections in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia Treated with Fludarabine. Annals of Internal Medicine. 1998 oct 1;129(7):559 –566.

37. Keating MJ, O'Brien S, Kantarjian H, Plunkett W, Estey E, Koller C, et al. Long-term follow-up of patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine as a single agent. Blood. 1993 juin 1;81(11):2878–84.

38. Cooperative Group for the Study of Immunoglobulin in Chronic Lymphocytic Leukemia. Intravenous immunoglobulin for the prevention of infection in chronic lymphocytic leukemia: a randomized, controlled clinical trial. New England Journal of Medicine. 1988;319:902–7.

39. Molica S, Musto P, Chiurazzi F, Specchia G, Brugiatelli M, Cicoira L, et al. Prophylaxis against infections with low-dose intravenous immunoglobulins (IVIG) in chronic lymphocytic leukemia. Results of a crossover study. Haematologica. 1996 avr;81(2):121 –126.

40. Chapel H, Dicato M, Gamm H, Brennan V, Ries F, Bunch C, et al. Immunoglobulin replacement in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a comparison of two dose regimes. British Journal of Haematology. 1994 sept 1;88(1):209–12.

41. Sinisalo M, Aittoniemi J, Käyhty H, Vilpo J. Vaccination Against Infections in Chronic Lymphocytic Leukemia. Leukemia & Lymphoma. 2003 janv;44:649–52.

42. Hartkamp A, Mulder AH., Rijkers G., van Velzen-Blad H, Biesma D. Antibody responses to pneumococcal and haemophilus vaccinations in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia. Vaccine. 2001 févr 8;19(13-14):1671–7.

43. Sinisalo M, Aittoniemi J, Oivanen P, Käyhty H, Ölander R, Vilpo J. Response to vaccination against different types of antigens in patients with chronic lymphocytic leukaemia. British Journal of Haematology. 2001 juill 1;114(1):107–10.

44. Morrison VA, Rai KR, Peterson BL, Kolitz JE, Elias L, Appelbaum FR, et al. Impact of Therapy With Chlorambucil, Fludarabine, or Fludarabine Plus Chlorambucil on Infections in Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia: Intergroup Study Cancer and Leukemia Group B 9011. Journal of Clinical Oncology. 2001 août 15;19(16):3611–21.

45. O'Brien S, Keating M, Mocarski E. Updated Guidelines on the Management of Cytomegalovirus Reactivation in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia Treated with Alemtuzumab. Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia. 2006;7(2):125–30.

46. Tsimberidou A-M, Wen S, McLaughlin P, O'Brien S, Wierda WG, Lerner S, et al. Other Malignancies in Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma. Journal of Clinical Oncology. 2009 févr 20;27(6):904 –910.

47. Travis LB, Curtis RE, Hankey BF, Fraumeni JF. Second Cancers in patients With Chronic Lymphocytic Leukemia. Journal of the National Cancer Institute. 1992;84(18):1422 –1427.

48. MH G, RN H, Jr FJ. Subsequent cancer in patients with chronic lymphocytic leukemia--a possible immunologic mechanism. Journal of the National Cancer Institute. 61(2):337.

49. Rai K, Sawitsky A, Cronkite E, Chanana A, Levy R, Pasternack B. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1975;46(2):219 –234.

50. Binet J -L, Catovsky D, Chandra P, Dighiero G, Montserrat E, Rai KR, et al. Chronic Lymphocytic Leukaemia: Proposals for a Revised Prognostic Staging System. British Journal of Haematology. 1981 juill 1;48(3):365–7.

51. Montserrat E, Alcalá A, Parody R, Domingo A, García-Conde J, Bueno J, et al. Treatment of chronic lymphocytic leukemia in advanced stages. A randomized trial comparing chlorambucil plus prednisone versus cyclophosphamide, vincristine, and prednisone. Cancer. 1985 nov 15;56(10):2369–75.

52. Letestu R, Lévy 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 nov 25;116(22):4588 –4590.

53. Yee KWL, O'Brien SM. Chronic Lymphocytic Leukemia: Diagnosis and Treatment. Mayo Clinic Proceedings. 2006 août;81(8):1105–29.

54. Montserrat E, Sanchez-Bisono J, Viñolas N, Rozman C. Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukaemia: analysis of its prognostic significance. British Journal of Haematology. 1986 mars 1;62(3):567–75.

55. Messmer BT, Messmer D, Allen SL, Kolitz JE, Kudalkar P, Cesar D, et al. In vivo measurements document the dynamic cellular kinetics of chronic lymphocytic leukemia B cells. Journal of Clinical Investigation. 2005 mars 1;115:755–64.

56. Keating MJ, Lerner S, Kantarjian H, Freireich EJ, O'Brien S. The serum beta2-microglobulin level is more powerful than stage in predicting response and survival in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1995;86(suppl 1):606a.

57. Molica S, Levato D, Cascavilla N, Levato L, Musto P. Clinico-prognostic implications of simultaneous increased serum levels of soluble CD23 and β2-microglobulin in B-cell chronic lymphocytic leukemia. European Journal of Haematology. 1999 févr 1;62(2):117–22.

58. Källander CFR, Simonsson B, Hagberg H, Gronowitz JS. Serum deoxythymidine kinase gives prognostic information in chronic lymphocytic leukemia. Cancer. 1984 déc 1;54(11):2450–5.

59. 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 mars 1;93(5):1732–7.

60. Sarfati M, Chevret S, Chastang C, Biron G, Stryckmans P, Delespesse G, et al. Prognostic importance of serum soluble CD23 level in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1996 déc 1;88(11):4259–64.

61. Lesesve JF, Florence AM, Maynadie GM, Feugier P. Prognostic relevance of soluble CD23 levels in CLL. The Hematology Journal. 2001;2(5):355–355.

62. 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 –1847.

63. Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, Oscier DG, Stevenson FK. Unmutated Ig VH Genes Are Associated With a More Aggressive Form of Chronic Lymphocytic Leukemia. Blood. 1999;94(6):1848 –1854.

64. Fält S, Merup M, Tobin G, Thunberg U, Gahrton G, Rosenquist R, et al. Distinctive gene expression pattern in VH3-21 utilizing B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2005 juill 15;106(2):681–9.

65. Tobin G, Thunberg U, Johnson A, Thörn I, Söderberg O, Hultdin M, et al. Somatically mutated Ig VH3-21 genes characterize a new subset of chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2002 mars 15;99(6):2262 –2264.

66. 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. The Journal of Experimental Medicine. 2001 déc 3;194(11):1625–38.

67. Chan AC, Iwashima M, Turck CW, Weiss A. ZAP-70: A 70 kd protein-tyrosine kinase that associates with the TCR Î¶ chain. Cell. 1992 nov 13;71(4):649–62.

68. 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. The Journal of Experimental Medicine. 2001 déc 3;194(11):1639 –1648.

69. Chen L, Widhopf G, Huynh L, Rassenti L, Rai KR, Weiss A, et al. Expression of ZAP-70 is associated with increased B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2002 déc 15;100(13):4609 –4614.

70. 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. New England Journal of Medicine. 2003;348(18):1764–75.

71. Orchard JA, Ibbotson RE, Davis Z, Wiestner A, Rosenwald A, Thomas PW, et al. ZAP-70 expression and prognosis in chronic lymphocytic leukaemia. The Lancet. 2004 janv 10;363(9403):105–11.

72. 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. New England Journal of Medicine. 2004;351(9):893–901.

73. Wiestner A. More ZAP for chronic lymphocytic leukemia (CLL). Blood. 2005 mars 1;105(5):1839–40.

74. Deaglio S, Capobianco A, Bergui L, Dürig J, Morabito F, Dührsen U, et al. CD38 is a signaling molecule in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. Blood. 2003;102(6):2146 –2155.

75. Lund F, Yu N, Kim K, Reth M, Howard M. Signaling through CD38 augments B cell antigen receptor (BCR) responses and is dependent on BCR expression. The Journal of Immunology. 1996;157(4):1455 –1467.

76. Deterre P, others. The CD38 molecule, antigen and ecto-enzyme: for which function? Hématologie. 2000;6(1):24–9.

77. Deterre P, Berthelier V, Bauvoisb B, Dalloul A, Schuber F, Lund F. CD38 in T-and B-cell functions. Human CD38 and related molecules. 2000;75:146–68.

78. Del Poeta G, Maurillo L, Venditti A, Buccisano F, Epiceno AM, Capelli G, et al. Clinical significance of CD38 expression in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2001 nov 1;98(9):2633–9.

79. Dürig J, Naschar M, Schmücker U, Renzing-Köhler K, Hölter T, Hüttmann A, et al. CD38 expression is an important prognostic marker in chronic lymphocytic leukaemia. Leukemia. 2002 janv;16(1):30–5.

80. Ibrahim S, Keating M, Do K-A, O'Brien S, Huh YO, Jilani I, et al. CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2001 juill 1;98(1):181 –186.

81. Juliusson G, Gahrton G. Chromosome aberrations in B-cell chronic lymphocytic leukemia: Pathogenetic and clinical implications. Cancer Genetics and Cytogenetics. 1990 avr;45(2):143–60.

82. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Kröber A, Bullinger L, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. New England Journal of Medicine. 2000;343(26):1910–6.

83. Leroux D, Lefebvre C, Callanan M. Anomalies génétiques des leucémies lymphoides chroniques. Pathologie Biologie. 2003 août 1;51(6):366–74.

84. Klein U, Dalla-Favera R. New insights into the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. Seminars in Cancer Biology. 2010 déc;20(6):377–83.

85. 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. British Journal of Haematology. 1996 janv 1;92(2):382–8.

86. Döhner 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 avr 1;89(7):2516–22.

87. 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 mars 15;85(6):1580–9.

88. Gonzalez D, Martinez P, Wade R, Hockley S, Oscier D, Matutes E, et al. Mutational status of the TP53 gene as a predictor of response and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the LRF CLL4 trial. J. Clin. Oncol. 2011 juin 1;29(16):2223–9.

89. Zenz T, Eichhorst B, Busch R, Denzel T, Häbe S, Winkler D, et al. TP53 Mutation and Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia. Journal of Clinical Oncology. 2010 oct 10;28(29):4473–9.

90. STILGENBAUER S, BULLINGER L, BENNER A, WILDENBERGER K, BENTZ M, DÖHNER K, et al. Incidence and clinical significance of 6q deletions in B cell chronic lymphocytic leukemia. Leukemia. 13(9):1331–4.

91. Tchirkov A, Chaleteix C, Magnac C, Vasconcelos Y, Davi F, Michel A, et al. hTERT expression and prognosis in B-chronic lymphocytic leukemia. Annals of Oncology. 2004 oct;15(10):1476 –1480.

92. Koller C, Bekele BN, Zhou X, Park C, Estrov Z, O'Brien S, et al. Plasma thrombopoietin compared with immunoglobulin heavy-chain mutation status as a predictor of survival in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2006;108(3):1001 –1006.

93. Molica S, Cutrona G, Vitelli G, Mirabelli R, Molica M, Digiesi G, et al. Markers of increased angiogenesis and their correlation with biological parameters identifying high-risk patients in early B-cell chronic lymphocytic leukemia. Leukemia Research. 2007 nov;31(11):1575–8.

94. Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, Di Leva G, Shimizu M, Wojcik SE, et al. A MicroRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. New England Journal of Medicine. 2005;353(17):1793–801.

95. Véronèse L. intérêt pronostique et mécanismes moléculaires de l'expression de MCL-1, IL-6 et VEGF dans la leucémie lymphoïde chronique [Internet]. [Clermont-Ferrand 1]: Clermont-Ferrand; 2007 [cité 2011 oct 8]. Available de: http://www.jle.com/e-docs/00/04/3F/20/article.phtml

96. Aurran-Schleinitz T, Arnoulet C, Ivanov V, Coso D, Rey J, Schiano J-M, et al. Prise en charge actuelle de la leucémie lymphoïde chronique. La Revue de Médecine Interne. 2008 mai;29(5):424–35.

97. Geneviève F, Delisle V, Gardembas M, Foussard C, Gardais J, Zandecki M. Les hémopathies lymphoïdes chroniques de l'adulte: la leucémie lymphoïde chronique et la phase de dissémination des lymphomes à petites cellules. Annales de Biologie Clinique. 2001.

98. Lesesve JF, Feugier P, Lamy T, Béné MC, Grégoire MJ, Lenormand B, et al. Association of B-chronic lymphocytic leukaemia and T-large granular lymphocyte leukaemia. Clinical & Laboratory Haematology. 2008 oct 9;22(2):121–2.

99. Viny A, Lichtin A, Pohlman B, Loughran T, Maciejewski J. Chronic B-cell dyscrasias are an important clinical feature of T-LGL leukemia. Leukemia and Lymphoma. 49(5):932–8.

100. PIGUET H, MONCONDUIT M, TILLY F, ADJIZIAN J-C, POTRON G, PIGNON B, et al. Effects of chlorambucil and therapeutic decision in initial forms of chronic lymphocytic leukemia (stage A): results of a randomized clinical trial on 612 patients. Blood. 75(7):1414–21.

101. Dighiero G, Maloum K, Desablens B, Cazin B, Navarro M, Leblay R, et al. Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. New England Journal of Medicine. 1998;338(21):1506–14.

102. Shustik C, Mick R, Silver R, Sawitsky A, Rai K, Shapiro L. Treatment of early chronic lymphocytic leukemia: Intermittent chlorambucil versus observation. Hematological Oncology. 1988 janv 1;6(1):7–12.

103. Leoni LM, Bailey B, Reifert J, Bendall HH, Zeller RW, Corbeil J, et al. Bendamustine (Treanda) Displays a Distinct Pattern of Cytotoxicity and Unique Mechanistic Features Compared with Other Alkylating Agents. Clin Cancer Res. 2008 janv 1;14(1):309–17.

104. Knauf WU, Lissichkov T, Aldaoud A, Herbrecht R, Liberati AM. Bendamustine versus chlorambucil in treatment-naive patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) : results of an international phase III study [Internet]. 2007 [cité 2012 févr 22]. Available de: http://direct.bl.uk/bld/PlaceOrder.do?UIN=219458690&ETOC=RN&from=searchengine

105. Fischer K, Stilgenbauer S, Schweighofer C, Renschler J. Bendamustine in Combinaison with rituximab (BR) for patients with relapsed chronic lymphocytic leukemia (CLL): a multicentre phase II trial of the German CLL Study Group (GCLLSG) [Internet]. 2007 [cité 2012 févr 22]. Available de: http://direct.bl.uk/bld/PlaceOrder.do?UIN=219469328&ETOC=RN&from=searchengine

106. Keating M, Kantarjian H, Talpaz M, Redman J, Koller C, Barlogie B, et al. Fludarabine: a new agent with major activity against chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1989 juill 1;74(1):19 –25.

107. Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, Kolitz J, Elias L, Shepherd L, et al. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. New England Journal of Medicine. 2000;343(24):1750–7.

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 oct 15;98(8):2319–25.

109. 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 févr 1;107(3):885 –891.

110. O'Brien SM, Kantarjian HM, Cortes J, Beran M, Koller CA, Giles FJ, et al. Results of the Fludarabine and Cyclophosphamide Combination Regimen in Chronic Lymphocytic Leukemia. Journal of Clinical Oncology. 2001 mars 1;19(5):1414 –1420.

111. Mowery YM, Weinberg JB, Kennedy MN, Bond KM, Moore JO, Lanasa MC, et al. LMP-420: a novel purine nucleoside analog with potent cytotoxic effects for CLL cells and minimal toxicity for normal hematopoietic cells. Leukemia. 2010;24(9):1580–7.

112. Bennett JM. The Use of 'chop' in the Treatment of Cll. British Journal of Haematology. 1990 avr 1;74(4):546–546.

113. french cooperative group of chronic lymphocytic leukemia effectiveness of CHOP - Google Scholar. lancet. 1986;1346–9.

114. Hansen MM, Andersen E, Birgens H, Christensen B, Christensen T, Geisler C, et al. CHOP versus chlorambucil+ prednisolone in chronic lymphocytic leukemia. Leukemia & Lymphoma. 1991;5(S1):97–100.

115. Keating MJ, Flinn I, Jain V, Binet J-L, Hillmen P, Byrd J, et al. Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study. Blood. 2002 mai 15;99(10):3554 –3561.

116. O'Brien SM, Kantarjian HM, Thomas DA, Cortes J, Giles FJ, Wierda WG, et al. Alemtuzumab as treatment for residual disease after chemotherapy in patients with chronic lymphocytic leukemia. Cancer. 2003 déc 15;98(12):2657–63.

117. Lundin J, Kimby E, Björkholm M, Broliden P-A, Celsing F, Hjalmar V, et al. Phase II trial of subcutaneous anti-CD52 monoclonal antibody alemtuzumab (Campath-1H) as first-line treatment for patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). Blood. 2002;100(3):768 –773.

118. Hillmen P, Skotnicki AB, Robak T, Jaksic B, Dmoszynska A, Wu J, et al. Alemtuzumab compared with chlorambucil as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia. Journal of Clinical Oncology. 2007;25(35):5616–23.

119. Huhn D, von Schilling C, Wilhelm M, Ho AD, Hallek M, Kuse R, et al. Rituximab therapy of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2001;98(5):1326 –1331.

120. Byrd JC, Rai K, Peterson BL, Appelbaum FR, Morrison VA, Kolitz JE, et al. Addition of rituximab to fludarabine may prolong progression-free survival and overall survival in patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia: an updated retrospective comparative analysis of CALGB 9712 and CALGB 9011. Blood. 2005 janv 1;105(1):49 –53.

121. Hallek M, Fingerle-Rowson G, Fink A, others. First-line treatment with fludarabine (F), cyclophosphamide (C), and rituximab (R)(FCR) versus fludarabine and cyclophosphamide (FC) improves overall survival (PFS) of previously untreated patients (pts) with advanced chronic lymphocytic leukemia (CLL). Blood. 2009;114:22.

122. Keating MJ, O'Brien S, Albitar M, Lerner S, Plunkett W, Giles F, et al. Early Results of a Chemoimmunotherapy Regimen of Fludarabine, Cyclophosphamide, and Rituximab As Initial Therapy for Chronic Lymphocytic Leukemia. Journal of Clinical Oncology. 2005 juin 20;23(18):4079 –4088.

123. Winkler U, Jensen M, Manzke O, Schulz H, Diehl V, Engert A. Cytokine-Release Syndrome in Patients With B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia and High Lymphocyte Counts After Treatment With an Anti-CD20 Monoclonal Antibody (Rituximab, IDEC-C2B8). Blood. 1999 oct 1;94(7):2217 –2224.

124. Wierda WG, Kipps TJ, Mayer J, Stilgenbauer S, Williams CD, Hellmann A, et al. Ofatumumab as single-agent CD20 immunotherapy in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. J. Clin. Oncol. 2010 avr 1;28(10):1749–55.

125. Morschhauser F. 884 Phase I Study of RO5072759 (GA101) in Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. 2009;

126. Salles A, Morchhauser F, Thieblemont C, others. Promising efficacy with the new anti-CD20 antibody GA101 in heavily pre-treated patients-first results from a phase II study in patients with relapsed/refractory indolent NHL (INHL). Haematologica. 2010;95:229.

127. Michallet M, Carreras E, Cornelissen JJ, Dreger P, Einsele H, Gratwohl A, et al. Allotransplants and autotransplants in CLL. Bone Marrow Transplant. 1999;23(Suppl 1):S53.

128. Dreger P, Stilgenbauer S, Benner A, Ritgen M, Kröber A, Kneba M, et al. The prognostic impact of autologous stem cell transplantation in patients with chronic lymphocytic leukemia: a risk-matched analysis based on the VH gene mutational status. Blood. 2004 avr 1;103(7):2850 – 2858.

129. Brion A, Mah|[eacute]| B, Kolb B, Audhuy B, Colombat P, Maisonneuve H, et al. Autologous transplantation in CLL patients with B and C Binet stages: final results of the prospective randomized GOELAMS LLC 98 trial. Bone Marrow Transplantation. 2011 juill 4;47(4):542–8.

130. Michallet M, Dreger P, Sutton L, Brand R, Richards S, Van Os M, et al. Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Chronic Lymphocytic Leukemia: Results of European Intergroup Randomized Trial Comparing Autografting Versus Observation. Blood. 2011 mars 2;117(5):1516–21.

131. Paneesha S, Milligan DW. Stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukaemia. British Journal of Haematology. 2005 janv 1;128(2):145–52.

132. Michallet M, Archimbaud E, Bandini G, Rowlings PA, Deeg HJ, Gahrton G, et al. HLA-Identical Sibling Bone Marrow Transplantation in Younger Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. Ann Intern Med. 1996 janv 2;124(3):311–5.

133. Dreger P, Brand R, Milligan D, Corradini P, Finke J, Lambertenghi Deliliers G, et al. Reduced-intensity conditioning lowers treatment-related mortality of allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia: a population-matched analysis. Leukemia. 2005 avr 14;19(6):1029–33.

134. 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. 2006 nov 16;21(1):12–7.

135. O'Brien SM, Cunningham CC, Golenkov AK, Turkina AG, Novick SC, Rai KR. Phase I to II Multicenter Study of Oblimersen Sodium, a Bcl-2 Antisense Oligonucleotide, in Patients With Advanced Chronic Lymphocytic Leukemia. JCO. 2005 oct 20;23(30):7697–702.

136. Awan FT, Johnson AJ, Lapalombella R, Hu W, Lucas M, Fischer B, et al. Thalidomide and lenalidomide as new therapeutics for the treatment of chronic lymphocytic leukemia. Leuk. Lymphoma. 2010 janv;51(1):27–38.

137. Chen CI, Bergsagel PL, Paul H, Xu W, Lau A, Dave N, et al. Single-agent lenalidomide in the treatment of previously untreated chronic lymphocytic leukemia. J. Clin. Oncol. 2011 mars 20;29(9):1175–81.

138. Chanan-Khan A, Miller KC, Musial L, Lawrence D, Padmanabhan S, Takeshita K, et al. Clinical Efficacy of Lenalidomide in Patients With Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia: Results of a Phase II Study. Journal of Clinical Oncology. 2006 déc 1;24(34):5343 –5349.

139. Badoux XC, Keating MJ, Wen S, Lee B-N, Sivina M, Reuben J, et al. Lenalidomide as initial therapy of elderly patients with chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2011 sept 29;118(13):3489–98.

140. Stilgenbauer S, Mertens D. Toward chemotherapy-free treatment of CLL. Blood. 2011;118(13):3451 –3452.

141. Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. N. Engl. J. Med. 2011 août 25;365(8):725–33.

142. Phelps MA, Lin TS, Johnson AJ, Hurh E, Rozewski DM, Farley KL, et al. Clinical Response and Pharmacokinetics from a Phase 1 Study of an Active Dosing Schedule of Flavopiridol in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. Blood. 2009 mars 19;113(12):2637–45.

143. Stephens DM, Ruppert AS, Blum K, Jones J, Flynn JM, Johnson AJ, et al. Flavopiridol Treatment of Patients Aged 70 or Older with Refractory or Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia Is a Feasible and Active Therapeutic Approach. Haematologica. 2012 janv 3;97(3):423–7.

144. Shanafelt TD, Drake MT, Maurer MJ, Allmer C, Rabe KG, Slager SL, et al. Vitamin D insufficiency and prognosis in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2011 févr 3;117(5):1492–8.

145. Arlet J, Callens C, Hermine O, Darnige L, Macintyre E, Pouchot J, et al. Chronic lymphocytic leukaemia responsive to vitamin D administration. British Journal of Haematology. 2012 janv 1;156(1):148–9.

146. Böttcher S, Ritgen M, Fischer K, Stilgenbauer S, Busch RM, Fingerle-Rowson G, et al. Minimal residual disease quantification is an independent predictor of progression-free and overall survival in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate analysis from the randomized GCLLSG CLL8 trial. J. Clin. Oncol. 2012 mars 20;30(9):980–8.

147. Caligaris-Cappio F, Hamblin TJ. B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia: A Bird of a Different Feather. Journal of Clinical Oncology. 1999 janv 1;17(1):399.

148. Caligaris-Cappio F. Role of the microenvironment in chronic lymphocytic leukaemia. British Journal of Haematology. 2003 nov 1;123(3):380–8.

149. Kuppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. Nature Reviews Cancer. 2005 avr 1;5(4):251–62.

150. Chiorazzi N, Ferrarini M. B cell chronic lymphocytic leukemia : Lessons Learned from Studies of the B Cell Antigen Receptor. Annual Review of Immunology. 2003 avr;21:841–94.

151. Hervé M, Xu K, Ng Y-S, Wardemann H, Albesiano E, Messmer BT, et al. Unmutated and mutated chronic lymphocytic leukemias derive from self-reactive B cell precursors despite expressing different antibody reactivity. J. Clin. Invest. 2005 juin;115(6):1636–43.

152. Meffre E, Chiorazzi M, Nussenzweig MC. Circulating Human B Cells That Express Surrogate Light Chains Display a Unique Antibody Repertoire. J Immunol. 2001 août 15;167(4):2151–6.

153. Haslinger C, Schweifer N, Stilgenbauer S, Döhner H, Lichter P, Kraut N, et al. Microarray gene expression profiling of B-cell chronic lymphocytic leukemia subgroups defined by genomic aberrations and VH mutation status. Journal of Clinical Oncology. 2004;22(19):3937–49.

154. Chiorazzi N, Rai KR, Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia. New England Journal of Medicine. 2005;352(8):804–15.

155. Albesiano E, Messmer BT, Damle RN, Allen SL, Rai KR, Chiorazzi N. Activation-induced cytidine deaminase in chronic lymphocytic leukemia B cells: expression as multiple forms in a dynamic, variably sized fraction of the clone. Blood. 2003;102(9):3333–9.

156. Packham G, Stevenson FK. Bodyguards and assassins: Bcl-2 family proteins and apoptosis control in chronic lymphocytic leukaemia. Immunology. 2005 avr 1;114(4):441–9.

157. Osorio LM, Jondal M, Aguilar-Santeliseb M. Regulation of B-CLL apoptosis through membrane receptors and Bcl-2 family proteins. Leukemia & lymphoma. 1998;30(3-4):247–56.

158. Hanada M, Delia D, Aiello A, Stadtmauer E, Reed JC. bcl-2 gene hypomethylation and high-level expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1993 sept 15;82(6):1820–8.

159. Pepper C, Hoy T, Bentley DP. Bcl-2/Bax ratios in chronic lymphocytic leukaemia and their correlation with in vitro apoptosis and clinical resistance. Br J Cancer. 1997;76(7):935–8.

160. Craig RW. MCL1 provides a window on the role of the BCL2 family in cell proliferation, differentiation and tumorigenesis. Leukemia. 2002 avr;16(4):444–54.

161. Moshynska O, Sankaran K, Pahwa P, Saxena A. Prognostic Significance of a Short Sequence Insertion in the MCL-1 Promoter in Chronic Lymphocytic Leukemia. JNCI J Natl Cancer Inst. 2004 mai 5;96(9):673–82.

162. Vrhovac R, Delmer A, Tang R, Marie J-P, Zittoun R, Ajchenbaum-Cymbalista F. Prognostic Significance of the Cell Cycle Inhibitor p27Kip1 in Chronic B-Cell Lymphocytic Leukemia. Blood. 1998 juin 15;91(12):4694 –4700.

163. Lagneaux L, Delforge A, de Bruyn C, Bernier M, Bron D. Adhesion to Bone Marrow Stroma Inhibits Apoptosis of Chronic Lymphocytic Leukemia Cells. Leukemia & Lymphoma. 1999 janv;35(5-6):445–53.

164. Burger JA, Burger M, Kipps TJ. Chronic Lymphocytic Leukemia B Cells Express Functional CXCR4 Chemokine Receptors That Mediate Spontaneous Migration Beneath Bone Marrow Stromal Cells. Blood. 1999 déc 1;94(11):3658 –3667.

165. Mainou-Fowler T, Miller S, Proctor SJ, Dickinson AM. The levels of TNFα, IL4 and IL10 production by T-cells in B-cell chronic lymphocytic leukaemia (B-CLL). Leukemia Research. 2001 févr;25(2):157–63.

166. Cantor H, Boyse EA. Functional subclasses of T-lymphocytes bearing different Ly antigens. I. The generation of functionally distinct T-cell subclasses is a differentiative process independent of antigen. J Exp Med. 1975 juin 1;141(6):1376–89.

167. Ledbetter JA, Rouse RV, Micklem HS, Herzenberg LA. T cell subsets defined by expression of Lyt-1,2,3 and Thy-1 antigens. Two-parameter immunofluorescence and cytotoxicity analysis with monoclonal antibodies modifies current views. J Exp Med. 1980 août 1;152(2):280–95.

168. Hayakawa K, Hardy RR, Honda M, Herzenberg LA, Steinberg AD, Herzenberg LA. Ly-1 B cells: functionally distinct lymphocytes that secrete IgM autoantibodies. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1984 avr 1;81(8):2494 –2498.

169. Manohar V, Brown E, Leiserson WM, Chused TM. Expression of Lyt-1 by a subset of B lymphocytes. J Immunol. 1982 août 1;129(2):532–8.

170. Boumsell L, Bernard A, Lepage V, Degos L, Lemerle J, Dausset J. Some chronic lymphocytic leukemia cells bearing surface immunoglobulins share determinants with T cells. European Journal of Immunology. 1978 déc 1;8(12):900–4.

171. Caligaris-Cappio F, Gobbi M, Bofill M, Janossy G. Infrequent normal B lymphocytes express features of B-chronic lymphocytic leukemia. J Exp Med. 1982 févr 1;155(2):623–8.

172. Herzenberg LA, Stall AM, Lalor PA, Sidman C, Moore WA, Parks DR, et al. The LY-1B Cell Lineage. Immunological Reviews. 1986 oct 1;93(1):81–102.

173. Jones NH, Clabby ML, Dialynas DP, Huang H-JS, Herzenberg LA, Strominger JL. Isolation of complementary DNA clones encoding the human lymphocyte glycoprotein T1/Leu-1. , Published online: 25 September 1986; | doi:10.1038/323346a0. 1986 sept 25;323(6086):346–9.

174. Freeman M, Ashkenas J, Rees DJ, Kingsley DM, Copeland NG, Jenkins NA, et al. An ancient, highly conserved family of cysteine-rich protein domains revealed by cloning type I and type II murine macrophage scavenger receptors. PNAS. 1990 nov 1;87(22):8810–4.

175. McAlister MSB, Brown MH, Willis AC, Rudd PM, Harvey DJ, Aplin R, et al. Structural analysis of the CD5 antigen. European Journal of Biochemistry. 1998 oct 1;257(1):131–41.

176. Burgess KE, Yamamoto M, Prasad KV, Rudd CE. CD5 acts as a tyrosine kinase substrate within a receptor complex comprising T-cell receptor zeta chain/CD3 and protein-tyrosine kinases p56lck and p59fyn. PNAS. 1992 oct 1;89(19):9311–5.

177. F L, M S, J C, JM V, O P, MA B, et al. CD5 signal transduction: positive or negative modulation of antigen receptor signaling. Critical reviews in immunology. 2000;20(4):347.

178. Davies AA, Ley SC, Crumpton MJ. CD5 is phosphorylated on tyrosine after stimulation of the T-cell antigen receptor complex. PNAS. 1992 juill 15;89(14):6368–72.

179. Gary-Gouy H, Lang V, Sarun S, Boumsell L, Bismuth G. In vivo association of CD5 with tyrosine-phosphorylated ZAP-70 and p21 phospho-zeta molecules in human CD3+ thymocytes. The Journal of Immunology. 1997 oct 15;159(8):3739 –3747.

180. Dennehy KM, Broszeit R, Garnett D, Durrheim GA, Spruyt LL, Beyers AD. Thymocyte activation induces the association of phosphatidylinositol 3-kinase and pp120 with CD5. European Journal of Immunology. 1997 mars 1;27(3):679–86.

181. Pani G, Fischer KD, Mlinaric-Rascan I, Siminovitch KA. Signaling capacity of the T cell antigen receptor is negatively regulated by the PTP1C tyrosine phosphatase. J Exp Med. 1996 sept 1;184(3):839–52.

182. Sen G, Bikah G, Venkataraman C, Bondada S. Negative regulation of antigen receptor-mediated signaling by constitutive asociation of CD5 with the SHP-1 protein tyrosine phosphatase in B-1 B cells. European Journal of Immunology. 1999 oct 1;29(10):3319–28.

183. Perez-Villar JJ, Whitney GS, Bowen MA, Hewgill DH, Aruffo AA, Kanner SB. CD5 Negatively Regulates the T-Cell Antigen Receptor Signal Transduction Pathway: Involvement of SH2-Containing Phosphotyrosine Phosphatase SHP-1. Mol. Cell. Biol. 1999 avr 1;19(4):2903–12.

184. Gary-Gouy H, Bruhns P, Schmitt C, Dalloul A, Daëron M, Bismuth G. The Pseudo-immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif of CD5 Mediates Its Inhibitory Action on B-cell Receptor Signaling. J. Biol. Chem. 2000 janv 7;275(1):548–56.

185. Youinou P, Jamin C, Lydyard PM. CD5 expression in human B-cell populations. Immunology Today. 1999 juill 1;20(7):312–6.

186. Solvason N, Kearney JF. The human fetal omentum: a site of B cell generation. J Exp Med. 1992 févr 1;175(2):397–404.

187. Hardy RR, Hayakawa K. Development and Physiology of LY-1 B and its Human Homolog, LEU-1 B. Immunological Reviews. 1986 oct 1;93(1):53–80.

188. Lydyard PM, Youinou PY, Cooke A. CD5-positive B cells in rheumatoid arthritis and chronic lymphocytic leukemia. Immunology Today. 1987;8(2):37–9.

189. Kipps TJ. The CD5 B Cell. Academic Press; 1989.

190. Donze HH, Lue C, Julian BA, Kutteh WH, Kantele A, Mestecky J. Human peritoneal B-1 cells and the influence of continuous ambulatory peritoneal dialysis on peritoneal and peripheral blood mononuclear cell (PBMC) composition and immunoglobulin levels. Clinical & Experimental Immunology. 1997 août 1;109(2):356–61.

191. Erkeller-Yuksel FM, Deneys V, Yuksel B, Hannet I, Hulstaert F, Hamilton C, et al. Age-related changes in human blood lymphocyte subpopulations. Journal of Pediatrics. 1992 févr;120(2):216–22.

192. Ali D. CD5: A safeguard against autoimmunity and a shield for cancer cells. Autoimmunity Reviews. 2009 févr;8(4):349–53.

193. Klein U, Dalla-Favera R. New insights into the phenotype and cell derivation of B cell chronic lymphocytic leukemia. Chronic Lymphocytic Leukemia. 2005;31–49.

194. Plater-Zyberk C, Maini RN, Lam K, Kennedy TD, Janossy G. A rheumatoid arthritis b cell subset expresses a phenotype similar to that in chronic lymphocytic leukemia. Arthritis & Rheumatism. 1985 sept 1;28(9):971–6.

195. Hardy RR, Hayakawa K, Shimizu M, Yamasaki K, Kishimoto T. Rheumatoid factor secretion from human Leu-1+ B cells. Science. 1987 avr 3;236(4797):81–3.

196. Hippen KL, Tze LE, Behrens TW. Cd5 Maintains Tolerance in Anergic B Cells. J Exp Med. 2000 mars 6;191(5):883–90.

197. Bröker BM, Klajman A, Youinou P, Jouquan J, Worman CP, Murphy J, et al. Chronic lymphocytic leukemic (CLL) cells secrete multispecific autoantibodies. Journal of Autoimmunity. 1988 oct;1(5):469–81.

198. Lankester AC, van Schijndel GMW, Cordell JL, van Noesel CJM, van Lier RAW. CD5 is associated with the human B cell antigen receptor complex. European Journal of Immunology. 1994 avr 1;24(4):812–6.

199. Bikah G, Carey J, Ciallella JR, Tarakhovsky A, Bondada S. CD5-Mediated Negative Regulation of Antigen Receptor-Induced Growth Signals in B-1 B Cells. Science. 1996 déc 13;274(5294):1906 –1909.

200. Adachi T, Wienands J, Wakabayashi C, Yakura H, Reth M, Tsubata T. SHP-1 Requires Inhibitory Co-receptors to Down-modulate B Cell Antigen Receptor-mediated Phosphorylation of Cellular Substrates. Journal of Biological Chemistry. 2001 juill 13;276(28):26648 –26655.

201. Nitschke L, Tsubata T. Molecular interactions regulate BCR signal inhibition by CD22 and CD72. Trends in Immunology. 2004 oct;25(10):543–50.

202. Xu Y, Harder KW, Huntington ND, Hibbs ML, Tarlinton DM. Lyn Tyrosine Kinase:: Accentuating the Positive and the Negative. Immunity. 2005;22(1):9–18.

203. Kipps TJ, Carson D. Autoantibodies in chronic lymphocytic leukemia and related systemic autoimmune diseases. Blood. 1993 mai;81(10):2475.

204. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. Blood. 1994 sept 1;84(5):1361–92.

205. Kobayashi R, Rassenti LZ, Meisenholder G, Carson DA, Kipps TJ. Autoantigen inhibits apoptosis of a human B cell leukemia that produces pathogenic rheumatoid factor. J Immunol. 1993 déc 15;151(12):7273–83.

206. Contri A, Brunati AM, Trentin L, Cabrelle A, Miorin M, Cesaro L, et al. Chronic lymphocytic leukemia B cells contain anomalous Lyn tyrosine kinase, a putative contribution to defective apoptosis. Journal of Clinical Investigation. 2005 févr 1;115(2):369–78.

207. Castejón R, Vargas JA, Romero Y, Briz M, Muñoz RM, Durántez A. Modulation of apoptosis by cytokines in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Cytometry. 1999 oct 15;38(5):224–30.

208. Howard M, O'Garra A, Ishida H, Waal Malefyt R, Vries J. Biological properties of interleukin 10. Journal of Clinical Immunology. 1992 juill;12(4):239–47.

209. Gary-Gouy H, Harriague J, Bismuth G, Platzer C, Schmitt C, Dalloul AH. Human CD5 Promotes B-Cell Survival Through Stimulation of Autocrine IL-10 Production. Blood. 2002 déc 15;100(13):4537–43.

210. Schena M, Larsson LG, Gottardi D, Gaidano G, Carlsson M, Nilsson K, et al. Growth- and Differentiation-Associated Expression of Bcl-2 in B-Chronic Lymphocytic Leukemia Cells. Blood. 1992 janv 6;79(11):2981–9.

211. Pers JO, Berthou C, Porakishvili N, Burdjanadze M, Le Calvez G, Abgrall J, et al. CD5-induced apoptosis of B cells in some patients with chronic lymphocytic leukemia. Leukemia. 2002;16(1):44–52.

212. Lugassy G, Boussiotis V, Ruchlemer R, Pangalis G, Berrebi A, Polliack A. Chronic Lymphocytic Leukemia in Young Adults: Report of Six Cases Under the Age of 30 Years. Leukemia and Lymphoma. 1991;5:179–82.

213. Montserrat E, Gomis F, Vallespi T, Rios A, Romero A, Soler J, et al. Presenting Features and Prognosis of Chronic Lymphocytic Leukemia in Younger Adults [see Comments]. Blood. 1991 sept 15;78(6):1545–51.

214. Leukemia FCG on CL. Comparison of the (A, B, C) staging and the Rai's staging from a large prospective series (935 patients). Nouvelle Revue Française d'Hématologie. 1988;30:363–7.

215. 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 janv 2;99(3):1023–9.

VU

NANCY, le **9 mai 2012**

Le Président de Thèse

Professeur P. FEUGIER

NANCY, le **9 mai 2012**

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Par délégation

Mme le Professeur M.C. BÉNÉ

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE/*3972*

NANCY, le **11 mai 2012**

L'ADMINISTRATEUR PROVISOIRE DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE,

Professeur J.P. FINANCE

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

La leucémie lymphoïde chronique est l'hémopathie maligne la plus fréquente en occident. Elle est caractérisée par la prolifération/accumulation de cellules B CD5+ bloquées en phase G0 du cycle cellulaire. C'est une pathologie présentant une évolutivité très différente d'un patient à l'autre allant d'une forme indolente ne nécessitant pas de traitement à une forme agressive conduisant à la mort en quelques mois. De nombreux marqueurs biologiques ont vu le jour ces dernières années permettant de prédire l'évolution de la maladie et ayant un rôle pronostique. Notre étude rétrospective a eu objectif d'investiguer l'expression de la molécule CD5 (glycoprotéine transmembranaire présente sur les cellules de LLC et faisant partie du score immunophénotypique diagnostique de Matutes) en pourcentage et en MFI chez 769 patients au diagnostic et d'étudier sa relation avec d'autres critères diagnostiques et pronostiques.

Nous avons montré que l'expression de CD5 en pourcentage apparaît plus importante dans les stades avancées de la maladie (stades B et C) par rapport aux stades A avec la présence d'une corrélation entre l'expression de CD5 en IMF et la leucocytose et lymphocytose en valeur absolue ce qui laisse penser que l'expression de CD5 est corrélée à des formes plus avancées et plus agressives de la maladie. Il existe également une relation de cette expression avec d'autres marqueurs pronostiques (CD38, CD23) et diagnostiques. Par contre l'expression de CD5 en MFI semble également légèrement plus importante pour les stades C mais ces résultats sont non significatifs. De même, nous avons montré une expression de CD5 en MFI plus importante chez les patients présentant un statut muté des Ig (de bon pronostic) ce qui est contradictoire par rapport aux résultats vus plus haut mais ces résultats ne sont pas significatifs car la puissance du test est trop faible.

Ces différents résultats suggèrent une possible relation de l'expression de CD5 avec des maladies agressives et évoluant rapidement mais cela reste à confirmer par d'autres études plus grandes et évaluant d'autres marqueurs pronostiques et diagnostiques.

TITRE EN ANGLAIS

Expression of CD5 in patients with chronic lymphocytic leukemia

---

THÈSE : MÉDECINE SPÉCIALISÉE - ANNÉE 2012

MOTS CLEFS : Leucémie Lymphoïde Chronique - molécule CD5 – apoptose - pronostic

---

INTITULÉ ET ADRESSE

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
Faculté de Médecine de Nancy
9, avenue de la Forêt de Haye
54505 VANDŒUVRE LES NANCY Cédex