



HAL
open science

Caractérisation protéomique du syndrome de Richter

Romain Morizot

► **To cite this version:**

Romain Morizot. Caractérisation protéomique du syndrome de Richter. Médecine humaine et pathologie. 2020. hal-03805998

HAL Id: hal-03805998

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03805998v1>

Submitted on 7 Oct 2022

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.



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>

THÈSE
Pour obtenir le grade de
DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement
Dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée
Par Romain MORIZOT

Le 19/10/2020

CARACTERISATION PROTEOMIQUE DU SYNDROME DE RICHTER

Membres du jury :

M. le Professeur Pierre FEUGIER
M. le Docteur Julien BROSEUS
M. le Professeur Luc-Matthieu FORNECKER
Mme le Docteur Aurore PERROT

Président
Juge et co-directeur
Juge
Juge et directrice



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE



FACULTÉ de MÉDECINE
NANCY

Président de l'Université de Lorraine :
Professeur Pierre MUTZENHARDT

Doyen de la Faculté de Médecine
Professeur Marc BRAUN

Assesseurs :

Premier cycle : Dr Nicolas GAMBIER
Deuxième cycle : Dr Antoine KIMMOUN
Troisième cycle : Pr Laure JOLY
Formation à la recherche : Pr Nelly AGRINIER
Relations Grande Région : Pr Thomas FUCHS-BUDER
CUESIM : Pr Stéphane ZUILY
SIDES : Dr Julien BROSEUS
Vie Facultaire : Dr Philippe GUERCI
Etudiant : Mme Audrey MOUGEL

Chargés de mission

Docimologie : Dr Jacques JONAS
Orthophonie : Pr Cécile PARIETTI-WINKLER
PACES : Pr Mathias POUSSEL
Relations internationales : Pr Jacques HUBERT

Présidente du Conseil de la Pédagogie : Pr Louise TYVAERT
Président du Conseil Scientifique : Pr Jean-Michel HASCOET

=====

DOYENS HONORAIRES

Professeur Jean-Bernard DUREUX - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Patrick NETTER - Professeur Henry COUDANE

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Etienne ALIOT - Jean-Marie ANDRE - Alain AUBREGE - Gérard BARROCHE - Alain BERTRAND - Pierre BEY - Marc-André BIGARD - Patrick BOISSEL - Pierre BORDIGONI - Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE - Jean-Louis BOUTROY - Serge BRIANÇON - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude CHARDOT - Jean-François CHASSAGNE - François CHERRIER - Henry COUDANE - Jean-Pierre CRANCE - Jean-Pierre DESCHAMPS - Jean-Bernard DUREUX - Gilbert FAURE - Gérard FIEVE - Bernard FOLIGUET - Jean FLOQUET - Robert FRISCH - Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Jean-Luc GEORGE - Alain GERARD - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Gilles GROSDIDIER - François GUILLEMIN - Philippe HARTEMANN - Gérard HUBERT - Claude HURIET - Michèle KESSLER - François KOHLER - Henri LAMBERT - Pierre LANDES - Pierre LASCOMBES - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Alain LE FAOU - Jacques LECLERE - Pierre LEDERLIN - Bernard LEGRAS - Jean-Pierre MALLIÉ - Philippe MANGIN - François MARCHAL - Jean-Claude MARCHAL - Yves MARTINET - Pierre MATHIEU - Michel MERLE - Daniel MOLÉ - Pierre MONIN - Pierre NABET - Patrick NETTER - Jean-Pierre NICOLAS - Francis PENIN - Claude PERRIN - Luc PICARD - François PLENAT - Jean-Marie POLU - Jacques POUREL - Francis RAPHAEL - Antoine RASPILLER - Denis REGENT - Jacques ROLAND - Daniel SCHMITT - Michel SCHMITT - Michel SCHWEITZER - Daniel SIBERTIN-BLANC - Claude SIMON - Danièle SOMMELET - Jean-François STOLTZ - Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Paul VERT - Hervé VESPIGNANI - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Jean-Pierre VILLEMOT - Michel WEBER - Denis ZMIROU - Faïez ZANNAD

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Etienne ALIOT - Pierre BEY - Henry COUDANE - Serge BRIANÇON - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Michèle KESSLER - Alain LE FAOU - Patrick NETTER - Jean-Pierre NICOLAS - Luc PICARD - François PLENAT - Jean-Pierre VILLEMOT - Faiez ZANNAD

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^e Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{re} sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Marc BRAUN – Professeure Manuela PEREZ

2^e sous-section : (*Histologie, embryologie et cytogénétique*)

Professeur Christo CHRISTOV

3^e sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Professeur Guillaume GAUCHOTTE

43^e Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{re} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER - Professeur Antoine VERGER

2^e sous-section : (*Radiologie et imagerie médicale*)

Professeur René ANXIONNAT - Professeur Alain BLUM - Professeur Serge BRACARD - Professeure Valérie CROISÉ - Professeur Jacques FELBLINGER - Professeur Benjamin GORY - Professeur Damien MANDRY - Professeur Pedro GONDIM TEIXEIRA

44^e Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{re} sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Professeur Jean-Louis GUEANT - Professeur Bernard NAMOUR - Professeur Jean-Luc OLIVIER

2^e sous-section : (*Physiologie*)

Professeur Christian BEYAERT - Professeur Bruno CHENUÉL - Professeur Mathias POUSSEL

3^e sous-section (*Biologie cellulaire*)

Professeure Véronique DECOT-MAILLERET

4^e sous-section : (*Nutrition*)

Professeur Didier QUILLIOT - Professeure Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT - Professeur Olivier ZIEGLER

45^e Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{re} sous-section : (*Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière*)

Professeur Alain LOZNIEWSKI – Professeure Evelyne SCHVOERER

2^e sous-section : (*Parasitologie et Mycologie*)

Professeure Marie MACHOUART

3^e sous-section : (*Maladies infectieuses ; maladies tropicales*)

Professeur Bruno HOEN - Professeur Thierry MAY - Professeure Céline PULCINI - Professeur Christian RABAUD

46^e Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{re} sous-section : (*Épidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Professeure Nelly AGRINIER - Professeur Francis GUILLEMIN

4^e sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)

Professeure Eliane ALBUISSON - Professeur Nicolas JAY

47^e Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{re} sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Professeur Pierre FEUGIER

2^e sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie*)

Professeur Thierry CONROY - Professeur Frédéric MARCHAL - Professeur Didier PEIFFERT - Professeur Guillaume VOGIN

3° sous-section : (Immunologie)

Professeur Marcelo DE CARVALHO-BITTENCOURT - Professeure Marie-Thérèse RUBIO

4° sous-section : (Génétique)

Professeur Philippe JONVEAUX - Professeur Bruno LEHEUP

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

1° sous-section : (Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire)

Professeur Gérard AUDIBERT - Professeur Hervé BOUAZIZ - Professeur Thomas FUCHS-BUDER
Professeure Marie-Reine LOSSER - Professeur Claude MEISTELMAN

2° sous-section : (Médecine intensive-réanimation)

Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT - Professeur Sébastien GIBOT - Professeur Bruno LÉVY

3° sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)

Professeur Pierre GILLET - Professeur Jean-Yves JOUZEAU

4° sous-section : (Thérapeutique-médecine de la douleur ; addictologie)

Professeur Nicolas GIRERD - Professeur François PAILLE - Professeur Patrick ROSSIGNOL

49° Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION

1° sous-section : (Neurologie)

Professeur Marc DÉBOUVERIE - Professeur Louis MAILLARD - Professeur Sébastien RICHARD - Professeur Luc TAILLANDIER
Professeure Louise TYVAERT

2° sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Thierry CIVIT - Professeure Sophie COLNAT-COULBOIS - Professeur Olivier KLEIN

3° sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Vincent LAPREVOTE - Professeur Raymund SCHWAN

4° sous-section : (Pédopsychiatrie ; addictologie)

Professeur Bernard KABUTH

5° sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean PAYSANT

50° Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1° sous-section : (Rhumatologie)

Professeure Isabelle CHARY-VALCKENAERE - Professeur Damien LOEUILLE

2° sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Laurent GALOIS - Professeur Didier MAINARD - Professeur François SIRVEAUX

3° sous-section : (Dermato-vénéréologie)

Professeure Anne-Claire BURSZTEJN - Professeur Jean-Luc SCHMUTZ

4° sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)

Professeur François DAP - Professeur Gilles DAUTEL - Professeur Etienne SIMON

51° Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

1° sous-section : (Pneumologie ; addictologie)

Professeur Jean-François CHABOT - Professeur Ari CHAOUAT

2° sous-section : (Cardiologie)

Professeur Edoardo CAMENZIND - Professeur Christian de CHILLOU DE CHURET - Professeur Yves JUILLIERE

Professeur Nicolas SADOUL

3° sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)

Professeur Juan-Pablo MAUREIRA - Professeur Stéphane RENAUD

4° sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)

Professeur Sergueï MALIKOV - Professeur Denis WAHL – Professeur Stéphane ZUILY

52° Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1° sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI - Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

2° sous-section : (Chirurgie viscérale et digestive)

Professeur Ahmet AYAV - Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD – Professeure Adeline GERMAIN

3° sous-section : (Néphrologie)

Professeur Luc FRIMAT - Professeure Dominique HESTIN

4° sous-section : (Urologie)

Professeur Pascal ESCHWEGE - Professeur Jacques HUBERT

53° Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE ET MÉDECINE GÉNÉRALE

1^{re} sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie)

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Jean-Dominique DE KORWIN - Professeure Gisèle KANNY
Professeure Christine PERRET-GUILLAUME – Professeur Roland JAUSSAUD – Professeure Laure JOLY

3^e sous-section : (Médecine générale)

Professeur Jean-Marc BOIVIN – Professeur Paolo DI PATRIZIO

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

1^{re} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Pascal CHASTAGNER - Professeur François FEILLET - Professeur Jean-Michel HASCOET
Professeur Emmanuel RAFFO - Professeur Cyril SCHWEITZER

2^e sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Pierre JOURNEAU - Professeur Jean-Louis LEMELLE

3^e sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)

Professeur Philippe JUDLIN - Professeur Olivier MOREL

4^e sous-section : (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)

Professeur Bruno GUERCI - Professeur Marc KLEIN - Professeur Georges WERYHA

55^e Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{re} sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)

Professeur Roger JANKOWSKI - Professeure Cécile PARIETTI-WINKLER

2^e sous-section : (Ophtalmologie)

Professeure Karine ANGIOI - Professeur Jean-Paul BERROD

3^e sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)

Professeure Muriel BRIX

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

61^e Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Professeur Walter BLONDEL

64^e Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER - Professeur Pascal REBOUL

65^e Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Professeure Céline HUSELSTEIN

=====

PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeure associée Sophie SIEGRIST

Professeur associé Olivier BOUCHY

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^e Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{re} sous-section : (Anatomie)

Docteur Bruno GRIGNON

2^e sous-section : (Histologie, embryologie, et cytogénétique)

Docteure Isabelle KOSCINSKI

44^e Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{re} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Docteure Shyue-Fang BATTAGLIA - Docteure Sophie FREMONT - Docteure Catherine MALAPLATE - Docteur Marc MERTEN - Docteur Abderrahim OUSSALAH

2^e sous-section : (Physiologie)

Docteure Silvia DEMOULIN-ALEXIKOVA - Docteur Jacques JONAS

45^e Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{re} sous-section : (Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)

Docteure Corentine ALAUZET - Docteure Hélène JEULIN - Docteure Véronique VENARD

2^e sous-section : (Parasitologie et mycologie)

Docteure Anne DEBOURGOGNE

46° Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{re} sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Docteur Cédric BAUMANN - Docteure Frédérique CLAUDOT - Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE
Docteur Arnaud FLORENTIN (stagiaire)

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

Docteure Isabelle THAON

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

Docteur Laurent MARTRILLE

47° Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{re} sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Docteur Julien BROSEUS – Docteure Maud D'AVENI

2° sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie*)

Docteure Lina BOLOTINE

3° sous-section : (*Immunologie*)

Docteure Alice AARNINK (stagiaire)

4° sous-section : (*Génétiq*ue)

Docteure Céline BONNET

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

1° sous-section : (*Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire*)

Docteur Philippe GUERCI

2° sous-section : (*Médecine intensive-réanimation*)

Docteur Antoine KIMMOUN

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

Docteur Nicolas GAMBIER - Docteure Françoise LAPICQUE - Docteur Julien SCALA-BERTOLA

**49° Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP
ET RÉÉDUCATION**

2° sous-section : (*Neurochirurgie*)

Docteur Fabien RECH (stagiaire)

3° sous-section : (*Psychiatrie d'adultes ; addictologie*)

Docteur Thomas SCHWITZER (stagiaire)

**50° Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE
PLASTIQUE**

4° sous-section : (*Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie*)

Docteure Laetitia GOFFINET-PLEUTRET

51° Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

3° sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire*)

Docteur Fabrice VANHUYSE

4° sous-section : (*Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire*)

Docteure Nicla SETTEMBRE

52° Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{re} sous-section : (*Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie*)

Docteur Anthony LOPEZ

2° sous-section : (*Chirurgie viscérale et digestive*)

Docteur Cyril PERRENOT

53° Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE ET MÉDECINE GÉNÉRALE

3° sous-section : (*Médecine générale*)

Docteure Kénora CHAU (stagiaire)

**54° Section : DEVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNECOLOGIE-
OBSTETRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

4° sous-section : (*Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; Gynécologie médicale*)

Docteure Eva FEIGERLOVA

5° sous-section : (*Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale*)

Docteur Mikaël AGOPIANTZ (stagiaire)

55° Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{re} sous-section : (Oto-Rhino-Laryngologie)

Docteur Patrice GALLET

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5° Section : SCIENCES ÉCONOMIQUES

Monsieur Vincent LHUILLIER

7° Section : SCIENCES DU LANGAGE : LINGUISTIQUE ET PHONETIQUE GENERALES

Madame Christine DA SILVA-GENEST

19° Section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Joëlle KIVITS

64° Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Madame Marie-Claire LANHERS - Monsieur Nick RAMALANJAONA

65° Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Madame Nathalie AUCHET - Madame Natalia DE ISLA-MARTINEZ - Monsieur Christophe NEMOS

66° Section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

69° Section : NEUROSCIENCES

Madame Sylvie MULTON

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Docteur Cédric BERBE

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeure Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
*Research Institute for Mathematical Sciences de
Kyoto (JAPON)*

Professeure Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS
(1996) *Université de Pennsylvanie (U.S.A)*
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
Université d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume-Uni)
Professeur Yunfeng ZHOU (2009)
Université de Wuhan (CHINE)
Professeur David ALPERS (2011)
Université de Washington (U.S.A)
Professeur Martin EXNER (2012)
Université de Bonn (ALLEMAGNE)

REMERCIEMENTS

**A Monsieur le Professeur Pierre FEUGIER,
Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Hématologie,
Président du Jury**

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de cette thèse, dans l'espoir qu'elle soit à la hauteur de vos attentes.

Nous vous remercions pour votre enseignement tout au long de ces années de formation, votre disponibilité, votre bienveillance et pour la confiance que vous nous accordez en nous permettant d'intégrer votre équipe.

Veillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A Monsieur le Docteur Julien BROSEUS
Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier en Hématologie,
Co-Directeur de thèse

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de co-diriger cette thèse avec le Docteur Aurore PERROT.

Nous vous remercions pour le temps que vous nous avez consacré, votre entrain qui nous pousse en avant et votre sympathie.

Que ce travail soit l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre gratitude.

A Madame le Docteur Aurore PERROT
Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier en Hématologie,
Directrice de thèse

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de diriger cette thèse avec le Docteur Julien BROSEUS.

Nous vous témoignons toute notre reconnaissance pour votre présence et votre disponibilité, votre patience et votre pédagogie qui a fait (entre autres) que le myélome est une discipline de moins en moins obscure au fur et à mesure des années.

Que ce travail soit l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre admiration.

A Monsieur le Professeur Luc-Matthieu FORNECKER
Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Hématologie,
Juge

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger cette thèse.
Nous vous remercions pour votre accompagnement à Strasbourg sans qui ce travail aurait été impossible, votre disponibilité, et votre pédagogie m'ayant permis de dédramatiser le monde de la pailleasse et de la biostatistique.
Veuillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profonde gratitude.

La famille

A Coraline, mon amour : merci de d'être battue pour rester avec nous tous. Merci de m'aimer. Merci de me soutenir au quotidien. Merci de m'avoir donné le plus des cadeaux : ma fille.

A Léa, ma princesse : tu as changé ma vie. Si petite mais tant d'amour à donner.

A Papa et Maman : vous m'avez donné l'inspiration de devenir médecin. Merci de me soutenir au quotidien surtout dans les moments les plus difficiles. C'est grâce à vous que j'y suis arrivé.

A Pierre : merci de partager tes passions, de m'avoir redonné gout au sport et appris à vouloir dépasser mes limites. Laure, merci de communiquer ta joie de vivre.

A mes Grands Parents : Marie-Thérèse, Albert et Françoise merci d'avoir toujours été là. Merci Claude de m'avoir inspiré ce métier, j'aurai aimé que tu sois là pour assister à cette thèse.

A Marie Claire et Jean Michel : merci pour votre soutien dans les bons comme les mauvais moments. Merci d'avoir fait de notre maison notre foyer.

A Valérie et Dominique : merci de votre soutien. Merci d'avoir hébergé un étudiant qui découvrait le monde du laboratoire. Sans vous ce travail n'aurait pas été possible.

A Christine et Max : merci pour votre aide lorsque que l'on en avait besoin.

A Francine, Yves, Pauline et Maëlle : Merci pour votre présence dans notre vie malgré la distance.

Les amis

A Brice, Gautier, Mathieu, Nico et Quentin : merci pour toutes années de la P2 à maintenant, pour tous ces moments partagés ou la sobriété était de rigueur.

A Alina, Julie, Manon, Marine, Nadège : merci d'avoir su nous rappeler à l'ordre lorsqu'il le fallait !

A Guillaume, Aline et Claire : merci de votre soutien et pour votre joie de vivre.

La médecine

A Sébastien : merci infiniment de ta disponibilité et de ton accompagnement tout au long de mon Master 2. Merci pour tes explications et ta sympathie. Sans toi jamais ces résultats n'auraient vu le jour.

A Romain Piucco : grâce à toi ces petits résultats vont devenir grands !

A l'équipe du LSMBO : Christine Carapito, Sarah Cianferani, Blandine
Et surtout Luc : Merci infiniment pour ton accueil à Strasbourg. Tu m'as fait découvrir une autre partie de la médecine que je ne connaissais pas : celui de la paillasse et de la biostatistique. Tout comme Seb, sans toi ces résultats n'auraient jamais vu le jour.

À mes co-internes d'hématologie, Anne-Bé, Sam, Emma, Charline, Hélène, Caro, Laurence, Claire, Charles, Marie, Esther et Nolwenn : merci de m'avoir épargné (en reprenant ce satané téléphone par exemple !) accrochez-vous ça vaut le coup !

A mes chefs :

A Luciane et Caroline J : merci de votre accueil et de votre soutien ! J'espère être à la hauteur !

A Lauriane, Caroline B et Gabrielle, Marie, Arnaud, Maud, Dana, Agnès, Serge et Pr Feugier merci de m'avoir accueillie depuis toutes ces années.

A Cécile, Marie et Laurence et Pr Rubio qui m'ont fait découvrir la greffe.

Au labo : à Julien B, Julien P, Jean, Véronique, Marie, Sylvain S, Sylvain H, Delphine, Birgit, Valérie et Michèle : merci de votre accueil et de m'avoir fait découvrir « l'envers du décor ».

A Metz : à Véronique, Philippe, Jessica, Isabelle, Oana, Olfa et particulièrement Houria : merci infiniment de votre accueil !

Aux infirmières AS et ASH d'hémato et surtout d'HDJ qui pensent tous les jours à mon régime.

SERMENT

« Au moment d'être admis 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.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçu 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 déshonoré et méprisé si j'y manque ».

LISTE DES ABREVIATIONS

CNRS	Centre National de la Recherche Scientifique
CR	Chimiorésistants
CRB	Centre de Ressources Biologiques
CS	Chimiosensibles
CSH	Cellules Souches Hématopoïétiques
EBV	<i>Epstein Barr Virus</i>
FILO	<i>French Innovative Leukemia Organization</i>
KNN	<i>k-nearest neighbors</i>
LAL	Leucémie Aigüe Lymphoïde
LBDGC	Lymphome B Diffus à Grandes Cellules
LDH	Lactate Déshydrogénase
LFQ	<i>Label Free Quantification</i>
LLC	Leucémie Lymphoïde Chronique
LSMBO	Laboratoire de Spectrométrie de Masse Bio-Organique
MAR	<i>Missing At Random</i>
MNAR	<i>Missing Not At Random</i>
nanoLC-MS/MS	Spectrométrie de masse en tandem, couplée à la nano-chromatographie en phase liquide
R-ACVBP	Rituximab, Adriblastine, Cyclophosphamide, Vindésine, Béomycine et Prednisone
R-CHOP	Rituximab, Cyclophosphamide, Doxorubicine, Vincristine et Prednisone
TEP scanner	Tomoscintigraphie par Emission de Positons couplée au scanner

SR	Syndrome de Richter
SUV	<i>Standard Uptake Values</i>
VSN	<i>Variance Stabilizing Normalization</i>

TABLES DES MATIERES

Introduction	21
Généralités	
Diagnostic du SR	
Données cytogénétiques et pronostiques	
Intérêt de l'étude du protéome	
Organisation d'une biocollection Richter au CRB Lorrain	
Comment travailler sur le protéome	
Objectifs du travail	
Article	25
Conclusion et discussion	40
Qualité des données	
Explication sur la chimiorésistance et l'agressivité du SR	
Limites	
Homogénéité de la cohorte	
Absence d'expression de PD-1	
Biais lié à la normalisation	
Biais lié à l'imputation	
Biais lié à une <i>p-value</i> non corrigée	
Absence de validation des données	
Données obtenues après nouveau protocole statistique	
Perspective et dimension du projet	48
Bibliographie	49
Annexes	51

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 : d'après Rossi *et al.* Blood, 2018 ⁶ : Schématisation des principaux gènes et voies dérégulées dans le SR.

Figure 2 : Distribution des *box plot* intensités d'expression des protéines en fonction des échantillons.

2A : Avant normalisation.

2B : exemple après normalisation selon la méthode VSN. Figures obtenues avec *Prostar*®.

Figure 3 : Nombre moyen de valeurs manquantes par groupes

3A sur la base des 4206 protéines.

3B : sur la base des 2685 protéines (filtre : protéine présente dans au moins 5 échantillons).

Figure 4 : Distribution des intensités d'expression des protéines de la plus petite valeur à la plus grande valeur, sur les données normalisées par VSN.

4A : avant imputation.

4B après imputation selon *KNN*. Figure obtenue d'après le mémoire de Romain PIUCCO (Développement d'outils bioinformatiques dédiés à l'analyse du protéome de patients atteints du syndrome de Richter)

LISTE DES ANNEXES

Annex 1a : Open Target's associations results with 165 proteins underexpressed in RS vs CS comparison

Annex 1b : EnrichR's results with 165 proteins underexpressed in RS vs CS comparison

Annex 1c : Open Target's associations results with 136 proteins Up in RS vs CS

Annex 1d: EnrichR's results with 136 proteins Up in RS vs CS

Annex 1a : Open Target's associations results with 79 proteins Down in RS vs CR

Annex 2b : EnrichR's results with 79 proteins Down in RS vs CR

Annex 2c : Open Target's associations results with 75 proteins Up in RS vs CR

Annex 2d: EnrichR's results with 75 proteins Up in RS vs CR

Annex 3a : Open Target's associations results with 61 proteins Down in RS vs S

Annex 3b : EnrichR's results with 61 proteins Down in RS vs S

Annex 3c : Open Target's results with 145 proteins Up in RS vs S

Annex 3d : EnrichR's results with 145 proteins Up in RS vs S

INTRODUCTION

Généralités

La Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC) (et sa forme purement ganglionnaire, le lymphome lymphocytaire) est une hémopathie maligne à petites cellules d'évolution indolente. A l'inverse, le Lymphome B Diffus à Grandes Cellules (LBDGC) est caractérisé par l'expansion clonale de grandes cellules B et par une évolution systématiquement agressive¹. Le premier cas d'une transformation d'un lymphome lymphocytaire en lymphome à grandes cellules a été décrit par Maurice Richter en 1928². C'est en 1964 que Lortholary *et al.* définissent cette transformation histologique agressive d'une LLC en "Syndrome de Richter" (SR)³.

Le SR est une évolution rare de la LLC (environ 5%). Dans la majorité des cas, il s'agit d'une transformation d'une LLC en LBDGC et plus rarement en maladie de Hodgkin⁴.

Diagnostic du SR

Le délai entre le diagnostic de la LLC et l'apparition d'un SR est court, entre 1 et 4 ans^{4,5}. Les arguments devant faire suspecter une transformation sont : (i) une tuméfaction extra-ganglionnaire et/ou une adénopathie supérieure 5 cm, (ii) une augmentation rapide du volume ganglionnaire, (iii) l'apparition d'une atteinte extra ganglionnaire, (iv) l'apparition de signes B et (v) une augmentation du taux de lactate déshydrogénase (LDH). Dans ce contexte, il est indiqué de réaliser une Tomoscintigraphie par Emission de Positons couplée au scanner (TEP scanner) pour guider la biopsie d'une zone hypermétabolique (avec une Standard Uptake Value (SUV) généralement > 10)⁶.

En anatomopathologie, il est alors facile de distinguer les cellules de la LLC de celles du LBDGC de par la taille de leur noyau et de par leur croissance diffuse. En immunohistochimie, les cellules du LBDGC présentent des particularités par rapport à celles de la LLC⁶⁻⁸ :

- Elles sont CD5+
- L'expression de Myc est positive dans 30 à 40 % des cas. Cela témoigne généralement d'une translocation du gène.
- Elles expriment le marqueur BCL-2 mais à l'inverse du LBDGC *de novo*, il est rare que ce gène soit amplifié.
- Le marquage nucléaire est négatif pour l'EBV.
- Et dans 80 % des cas, elles expriment le marqueur PD-1.

Données cytogénétiques et pronostiques

Dans plus de 80 % des cas, la transformation est clonale, c'est-à-dire que le réarrangement VDJ du gène *IGVH* des cellules de la LLC est identique avec celui des cellules du LBDGC^{9,10,5}. Les données actuelles distinguent donc deux sous types de SR au pronostic extrêmement différent : (i) la forme clonale et (ii) la forme non clonale. Cette dernière constitue probablement un LBDGC *de novo*, indépendant, se développant dans le contexte favorable de l'immunodépression associée à la LLC. Cette forme est de meilleur pronostic .

Sur le plan anatomopathologique, il existe très peu de différence entre le SR et le LBDGC *de novo* : morphologiquement les cellules ont le même aspect. En immunohistochimie, les cellules du SR sont, contrairement à celles du LBDGC *de novo*, CD5+ et PD-1+.

Pour la forme non clonale du SR, la réponse au traitement et le pronostic s'approchent de celui d'un LBDGC *de novo*, c'est-à-dire entre 80 et 90 % de rémission complète, avec des durées de survie prolongées et une médiane de survie à 62,5 mois¹¹. Par contre, lorsque la relation est clonale, la médiane de survie est entre 1 et 13 mois en fonction des facteurs de risques^{6,11,12}.

Les principales anomalies moléculaires expliquant cette différence de pronostic sont encore mal élucidées. Mais quatre anomalies principales ont été décrites (*Figure 1*) : (i) une dérégulation de l'apoptose et du contrôle du cycle cellulaire avec des altérations de *TP53* dans 40 à 60 % des cas et/ou une délétion du gène codant la protéine *CDKN2A* dans 30 à 40 % des cas, (ii) une stimulation de la prolifération par une activation de *NOTCH1* dans 30 à 40 % des cas et/ou une amplification *c-Myc* dans 30 à 40 % des cas^{6,11}.

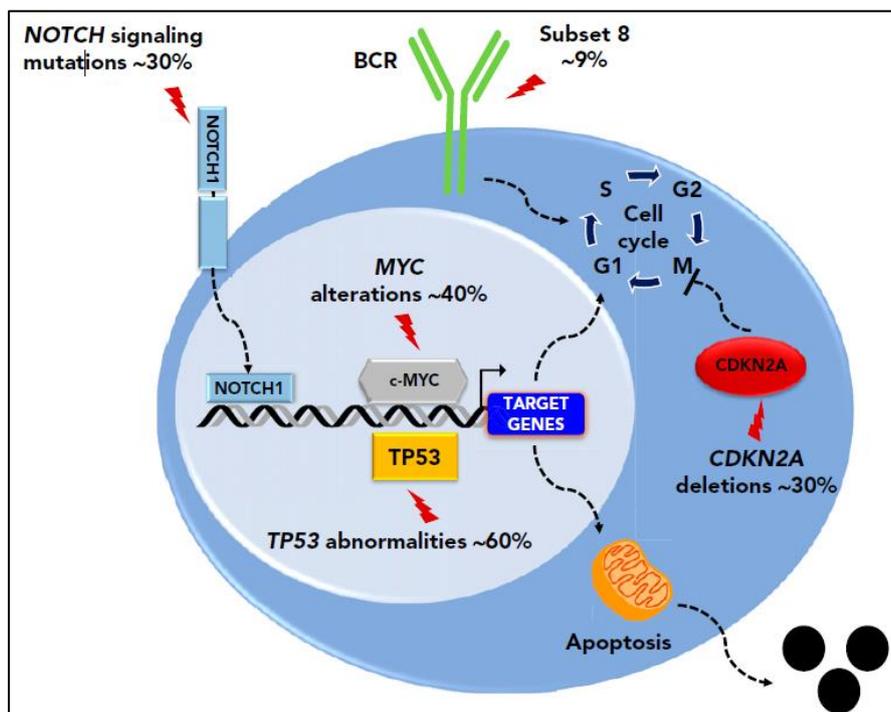


Figure 1 : d'après Rossi *et al.* Blood, 2018⁶ : Schématisation des principaux gènes et voies dérégulées dans le SR.

A ce jour, seules les greffes (allo ou autogreffe) de cellules souches hématopoïétiques (CSH) permettent une efficacité durable en terme de survie globale pour les patients présentant les formes clonales du SR⁶. Compte tenu de la prévalence de cette maladie chez une population relativement âgée d'une part, et de la toxicité du conditionnement d'une greffe de CSH d'autre part, il est nécessaire de comprendre les spécificités du SR par rapport aux autres lymphomes afin de mieux adapter la prise en charge, idéalement en utilisant des thérapies ciblées.

Intérêt de l'étude du protéome ?

Les données actuelles ne nous permettent pas de décrypter totalement ce qu'est le SR. Elles se concentrent principalement sur l'analyse du génome, alors que les protéines sont les premières effectrices dans le fonctionnement cellulaire. La composition du protéome est variable en fonction du temps car hautement dépendante des mécanismes de régulation situés aussi bien en amont qu'en aval (méthylation de l'ADN, régulation transcriptionnelle, modifications post-traductionnelles, métabolisme protéique...)¹³. Ainsi les analyses génomiques/transcriptomiques ne permettent qu'une approche putative du fonctionnement cellulaire. Les études sur le protéome dans d'autres pathologies apportent des informations intéressantes. Par exemple, nous savons que le LBDGC et les Leucémies Aigües Lymphoïdes (LAL) chimio-réfractaires expriment moins de protéines impliquées dans l'organisation du cytosquelette d'actine, ce qui a une conséquence sur une inhibition de l'apoptose induite par la chimiothérapie¹⁴⁻¹⁹.

Organisation d'une « biocollection Richter » au CRB Lorrain

Dans le cadre d'un projet national mené sous l'égide du groupe *FILo (French Innovative Leukemia Organization)*, dès 2018, une enquête a été réalisée auprès de chaque centre partenaire via un questionnaire court, contenant les informations cliniques essentielles, pour recenser les patients atteints d'un SR et susceptibles d'être inclus dans l'étude.

Les centres partenaires ont envoyé les échantillons correspondants au Centre de Ressources Biologiques (CRB) Lorrain pour évaluation de la masse des différentes biopsies et sélection de celles dont la masse est estimée suffisante pour la réalisation des analyses.

Cette biocollection a notamment réuni des échantillons ganglionnaires congelés au diagnostic. Chaque cas a été colligé avec un recueil des données clinico-biologique. Il s'agit à notre connaissance de la plus grosse biocollection Richter en France.

Comment travailler sur le protéome ?

La première partie du travail a consisté à extraire les protéines du tissu, puis à les identifier. Il existe alors plusieurs techniques d'identification.

- Par exemple l'électrophorèse bidimensionnelle (qui permet de sélectionner une protéine d'intérêt) couplée à la spectrométrie de masse. Cette technique a permis d'évaluer la différence d'expression protéique entre LLC *IGVH* mutée *versus* non mutée²⁰. La limite de cette technique est qu'elle ne permet que l'identification d'un nombre limité de protéines présentes dans la zone de migration de l'électrophorèse, définie par le gradient de pH utilisé dans la première dimension.
- Pour ce travail, nous avons opté pour l'utilisation de la spectrométrie de masse en tandem, couplée à la nano-chromatographie en phase liquide (*nanoLC-MS/MS*). En effet, grâce à l'amélioration des techniques d'extraction, il est possible d'identifier et également de quantifier (valeurs exprimées en *Label Free Quantification - LFQ*²¹) la présence de plusieurs milliers de protéines au sein d'un échantillon^{22,23}. Cette étape du travail a été réalisé en collaboration avec les membres du Laboratoire de Spectrométrie de Masse Bio-Organique (LSMBO) au CNRS de Strasbourg.

La seconde partie a consisté à analyser et interpréter les données brutes obtenues à partir du spectromètre.

- Rechercher les différences d'expression statistiquement significatives des protéines une à une (ou « prises individuellement »).
- Reconstruire *in silico* par des méthodes bioinformatiques les réseaux d'interaction entre les protéines identifiées comme différentiellement exprimées
- Annoter fonctionnellement les protéines différentielles pour mieux comprendre la physiopathologie du SR et les déterminants de sa chimiorésistance.

Objectifs de l'étude

Par ce travail nous voulons (i) mettre en évidence un profil protéomique spécifique du SR c'est-à-dire trouver de nouveaux biomarqueurs pouvant distinguer le SR par rapport aux LBDGC *de novo* et (ii) comprendre les déterminants de l'agressivité du SR par rapport au LBDGC *de novo* pour ouvrir la porte à la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques.

ARTICLE

Large-Scale Proteome Comparison With *de Novo* and other secondary DLBCLs Uncovers a Specific Signature in Richter Syndrome: A French Study from the FILO Group

Morizot R*, Hergalant S*, Piucco R, Quinquenel A, Dartigeas C, Bouclet F, Augé H, Tausch E, Lomazzi S, Busby H, Tomowiak C, Leblond V, Thieblemont C, Cymbalista F, Béné MC, Stilgenbauer S, Guièze R, Carapito C, Perrot A, Fornecker LM, Feugier P, Broséus J.

*Equal contribution

INTRODUCTION

Richter syndrome (RS) is defined as the occurrence of an aggressive lymphoma in the course of chronic lymphocytic leukemia (CLL) or small lymphocytic lymphoma (SLL). Most transformations are activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), and are rarely Hodgkin lymphoma¹⁻⁴. RS prognosis remains devastating with anthracycline-based or platinum-based chemotherapy. Very low complete response rates and poor overall survival are observed⁵.

The RS and *de novo* DLBCL share only a few common features. In fact, they have different mutational landscapes : the most frequent abnormalities described *de novo* DLBCLs are not found in RS. Abnormalities of BCL1, BCL2, BCL6, PRDM1 and EZH2 are found in *de novo* DLBCL^{1,6}, while TP53, MYC, NOTCH, CDKN2A abnormalities are frequently found in SR^{1,6-8}.

Proteins are the primary cellular biological effectors. Proteome composition is highly dependent on regulatory mechanisms acting both upstream and downstream translation (transcriptional regulation, post-translational modifications, protein metabolism). Thus, the analysis of the genome and the transcriptome only allows a putative extrapolation of the expressed proteome. Some proteomic studies already interested CLL and *de novo* DLBCLs. Perrot *et al.* already shown different profiles in CLL according to IGVH mutational status after B-Cell Receptor activation⁹ and Fornecker *et al.* described precisely *de novo* relapsed/refractory (R/R) DLBCLs¹⁰.

We performed for the first time a large-scale proteome analysis on RS patient's samples to identify new potential biomarkers that could differ between RS and *de novo* DLBCL, aiming at understanding mechanisms underlying the chemoresistance and aggressiveness of the disease.

MATERIALS AND METHODS

Patients selection and sample heading

Patients samples were selected among the fresh-frozen tissue-sample collection available from the "Centre de Ressources Biologiques Lorrain". We selected 4 groups of patients between 2004 to 2019 : RS, other secondary DLBCLs (S), chemosensitive (CS) *de novo* DLBCL and chemoresistant (CR) DLBCL. Patients were considered CR if they had a stable or progressive disease on tomography or PET-scanner after first-line according to Cheson

criteria ¹¹, or if they relapsed less than one year after having achieved a complete response. Patients who achieved a complete response after first line treatment and did not relapse thereafter, with a minimal follow-up of at least 24 months after the end of treatment, were considered CS. The other secondary (S) DLBCL occurred in the context of an other preexisting indolent lymphoma (follicular lymphoma, marginal zone lymphoma or Waldenström macroglobulinemia). All samples were obtained by a surgical resection or radiologically guided biopsy from tumor mass. All samples benefited from centralized reviewing. The study of Cell Of Origin was performed by immunohistochemistry according to Hans algorithm ¹². The determination of EBV status was made by hybridization with EBER probe. A tumoral purity superior to 50% was a prerequisite for sample selection. The sample weight had to be greater than or equal to 10 mg.

We retrospectively analyzed the treatment and outcome of each patient. The first line of treatment combined anti-CD20 monoclonal antibody with an anthracycline or platinum salts-based regimen.

Proteins extraction and sample preparation

Proteins were extracted from ~10 mg of fresh frozen tumor tissues in a lysis buffer containing 62.5 mM Tris HCl pH 6.8, 2% SDS and 10% glycerol. Protein concentration was determined with DC™ method (BioRad, Hercules, CA, USA) according to manufacturer's instructions.

For each sample, 20 µg of proteins were used for tube-gel preparation, with tube-gel method as previously described in different study by Fornecker *et al* and Muller *et al*. ^{10,13–15}.

NanoLC-MS/MS analysis

As previously described ¹⁰, the nanoLC-MS/MS analysis was performed on a nanoAcquity UPLC device (Waters Corporation, Milford, USA) coupled to a Q-Exactive Plus mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Peptide separation was performed on an ACQUITY UPLC BEH130 C18 column (250 mm × 75 µm with 1.7 µm diameter particles) and a Symmetry C18 precolumn (20 mm × 180 µm with 5 µm diameter particles, Waters). The solvent system consisted of 0.1% FA in water (solvent A) and 0.1% FA in ACN (solvent B). Samples (equivalent to 800 ng of proteins) were loaded into the enrichment column over 3 min at 5 µL/min with 99% of solvent A and 1% of solvent B. The peptides were eluted at 450 nL/min with the following gradient of solvent B: from 1 to 35% over 120 min and 35 to 80% over 1 min. The 20 samples were injected in randomized order. The MS capillary voltage was set to 1.8 kV at 250 °C. The system was operated in Data Dependent Acquisition mode with automatic switching between MS (mass range 300–1800 m/z with R = 140,000, Automatic gain control (AGC) fixed at 3×10^6 ions and a maximum injection time set at 50 ms) and MS/MS (mass range 200–2000 m/z with R = 17,500, AGC fixed at 1×10^5 and the maximal injection time set to 100 ms) modes. The ten most abundant peptides were selected on each MS spectrum for further isolation and higher energy collision dissociation fragmentation, excluding unassigned and monocharged ions. The dynamic exclusion time was set to 60 s.

Statistical analysis

Raw data obtained for each sample were processed using MaxQuant¹⁶ (version 1.5.5.1). The protein identification were processed using Andromeda search engine¹⁷ with full trypsin specificity. The isoform-containing human database used for the search was extracted from the UniProtKB-SwissProt database¹⁸ (downloaded 12/04/2019 with 20 415 entry). The minimum peptide length required was seven amino acids and a maximum of one missed cleavage was allowed. For protein quantification, the “match between runs” option was enabled. The maximum false discovery rate (FDR) was 1% at peptide and protein levels with the use of a decoy strategy. Methionine oxidation was set as a variable modification and peptides with modified methionines, as their unmodified counterparts, were excluded from protein quantification. Cysteine carbamidomethylation was set as a variable modification to account for the potential propionamide modifications of cysteine residues. Cysteine propionamidation was thus also set as a variable modification. The revers and contaminant protein were displayed. We selected only proteins present in at least 5 samples.

The protein was considered as up regulated (up) if the Fold Change (FC) was superior to 1.2 and down regulated (down) if the FC was inferior to 0.8 and significant with p-value inferior to 0.05 according to bilateral student test.

The hierarchical classification was obtained with PermutMatrix¹⁹ with dissimilarity measure by Euclidean distance and agglomeration by Ward inertia. The Gene Ontology (GO) association was obtained with Open Target database²⁰, functional annotations with GoMiner²¹, enrichments with EnrichR²² and Protein-Protein Interaction (PPI) reconstruction networks with String²³. For the PPI we used a high confidence score > 0.7.

RESULTS

Samples

Sixty samples from 7 different centers affiliated to French Innovative Leukemia Organization (FILO) were included (*Figure 1*). One sample was excluded after quality controls. All samples came from fresh frozen lymph node biopsy. 21 patients presented RS (RS group), 28 *de novo* DLBCL including 19 CS (CS group) and 9 CR (CR group) and 9 Secondary DLBCLs excluding RS (S group). The means tumoral purity, sample mass and concentration of protein extraction were 80%, 15.7 mg and 8.93 µg/µL, respectively.

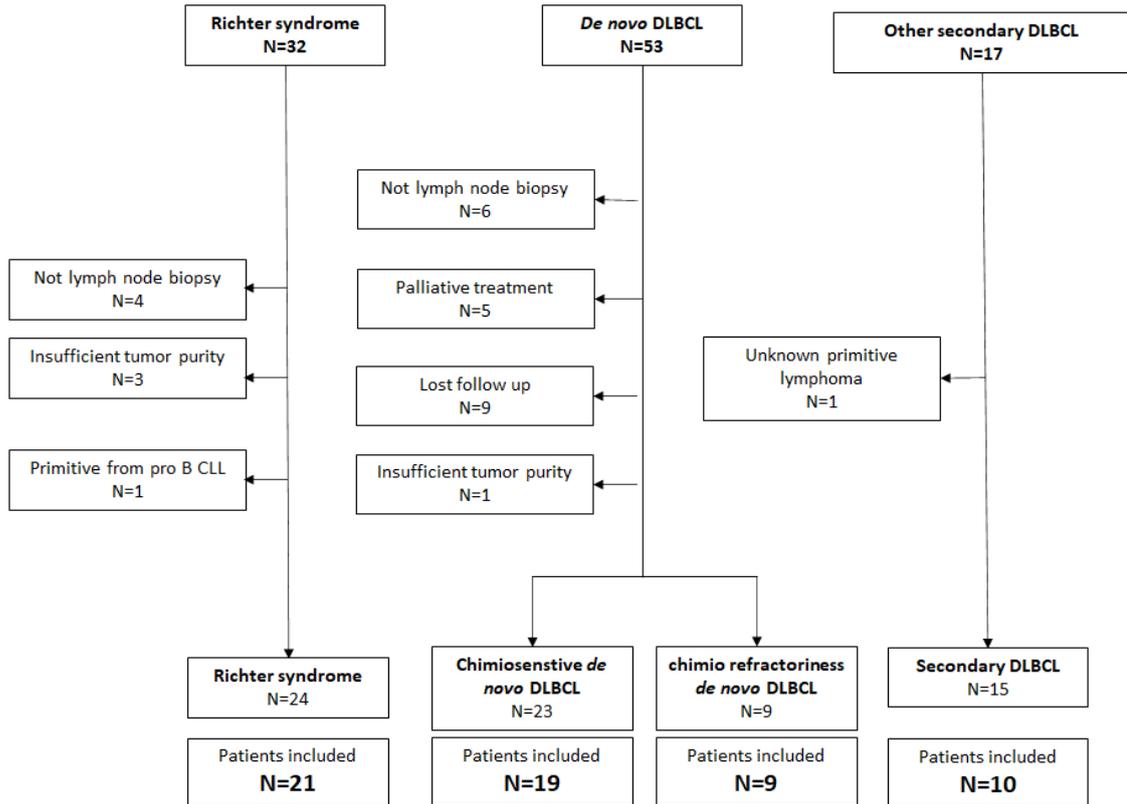


Figure 1 : Flow chart of sample selection

Clinical and biological data

The clinical characteristics of the cohort are presented in *Table 1*. The median age was 70, 66, 61 and 70 years respectively for groups CS, CR, RS and S. The overall survival (OS) was 22 months for CR versus 7.5 months for RS and not reach for CS and S. Sixteen out of the 21 (76%) RS were *IGVH* unmutated. 10 of 11 (91%) RS were clonally related to their CLL counterpart. The mutational landscape of RS samples (*figure 2*) contained TP53 abnormality in 11 (52%) patients, including TP53 mutations in 4 (19%), 3 (14%) del(17p) and 4 (19%) with both. Six (29%) have *NOTCH1* mutation, 4 (19%) have (8q) amplification, 4 (19%) have (del13q), 3 (14%) have tri(12) and 2 (10%) have del(11q).

	CS n = 19	CR n = 9	S n = 10	RS n = 21
Male	8 (42%)	6 (60%)	6/10 (60%)	13 (62%)
Median age	70 years	66 years	70 years	61 years
Immunochemistry				
GC	6/13 (46%)	1/4 (25%)	3/5 (60%)	0 (0%)
non-GC	7/13 (54%)	3/4 (75%)	2/5 (40%)	9/9 (100%)
CD5+	0/15 (0%)	0/7 (0%)	1/9 (11%)	16/17 (94%)
median Ki67	80%	80%	60%	60%
EBV+	1/8 (13%)	-	-	2/12 (17%)
First line of treatment				
R CHOP	14/19 (74%)	7/9 (78%)	7/10 (70%)	12/19 (63%)
R-ACVBP	4/19 (21%)	2/9 (22%)	1/10 (10%)	2/19 (11%)
R-DHAOx	1/19 (5%)	0/9 (0%)	2/20 (20%)	3/19 (15%)
Palliative	0	0	0	2/19 (11%)
Autograft	1/19 (5%)	0/9 (0%)	0/7 (0%)	5/19 (28%)
Allograft	0	0	0	1/19 (5%)
OS	> 5 years	22 months	> 5 years	7.5 months
LDH > N	13/16 (82%)	9 (100%)	NA	15/16 (93%)
Ann Arbor stage				
1-2	5/19 (32%)	2 (22%)	3/7 (43%)	2/21 (20%)
3-4	13/19 (68%)	7 (78%)	4/7 (57%)	19/21 (90%)

Table 1 : Patient's clinical characteristics. GC : Germinal center. OS : Overall Survival. R-CHOP : Rituximab Cyclophosphamide Doxorubicine Vincristin Prednisone. R-ACVBP : Rituximab, Doxorubicine, Cyclophosphamide, Vincristin, Bléomycine, Prednisone. R-DHAOx : Rituximab, High dose Aracytine, Oxaliplatin, Dexamethasone. LDH : Lactate dehydrogenase

	TP53	NOTCH1	SF3B1	ATM	BIRC3	MYD88	POT1	XPO1	BRAF	NFKBIE	EGR2	FBXW7	RPS15	Del 17p13	Del 11q23	Del 13q14	Tri 12	Del 19p21.3	Amp 8q24
R_AVI01	■													■				■	
R_CLM01																	■		
R_CLM09		■									■								
R_CLM07	■																		
R_CLM12		■					■						■					■	■
R_LPS02			■									■				■			■
R_LPS04	■													■				■	
R_LPS10																■			
R_NCY04																	■		
R_NCY14		■					■	■											■
R_NCY22			■												■				
R_NCY228	■																		
R_NCY26			■								■							■	
R_NCY77	■																■	■	
R_POI01			■											■	■				
R_POI02	■													■	■			■	■
R_REI02											■								
R_REI03		■											■	■		■			
R_REI04													■	■				■	
R_TRS01		■																	
R_TRS04	■	■																	

Figure 2 : Mutational landscape of RS samples

Descriptive analysis

4,391 proteins were identified, including 4,206 quantified. Identified and quantified proteins were 1,942, 1,998, 1,947 et 1,850 for SR, CR, CS and S groups, respectively. Comparisons of all samples versus median sample shown a high Pearson coefficient correlation (average $r = 0.87$) demonstrating a high quantitative accuracy and a high similarity in the global proteomes.

RS vs *de novo* DLBCL

2,700 proteins were present in at least 5 samples. The hierarchical classification of 114 significant proteins (*Figure 3*) shown a specific proteome in 17/21 (81%) of cases.

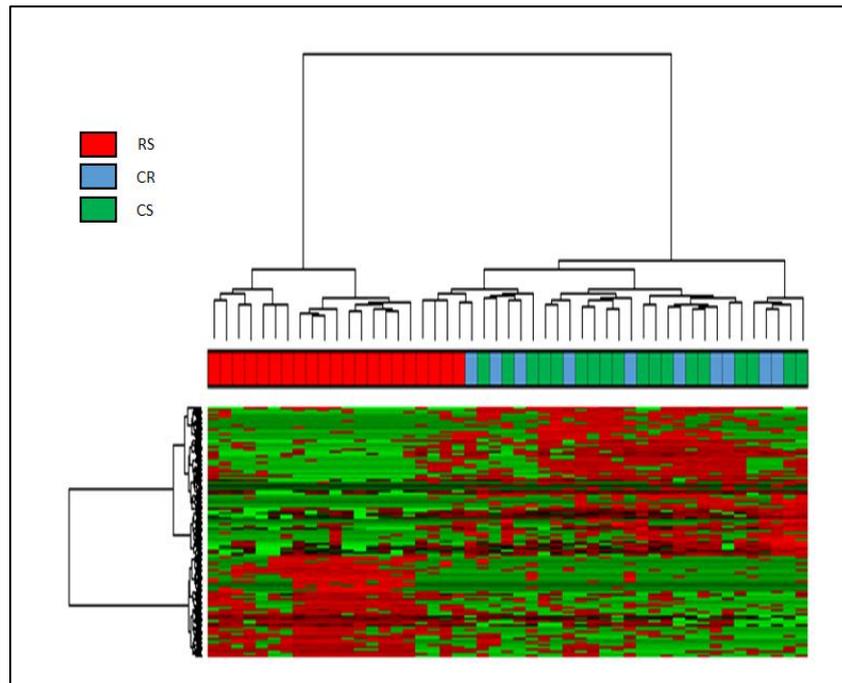


Figure 3 : Hierarchical classification of 114 significant proteins in comparison RS vs de novo DLBCL. 17/21 (81%) of RS aggregate among themselves on a unique arm.

RS vs CS

2,629 proteins were present in at least 5 samples. 301 proteins were significantly differentially expressed, including 165 overexpressed and 136 underexpressed in RS. Associations and enrichments are shown in *Appendix 1*. Regarding underexpressed proteins, GO (Gene Ontology) associations match with complement activation ($p = 1,7 \cdot 10^{-07}$), positive regulation of immune response ($p = 1,43 \times 10^{-8}$). Enrichments shown interaction with regulation of complement activation ($q = 2,92 \times 10^{-8}$). And functional annotations shown protein/gene association with JDP2 ($q = 1,21 \times 10^{-5}$), EZH2 ($q = 3,99 \times 10^{-5}$) et CEBPE ($q = 1,72 \times 10^{-3}$). Regarding protein overexpressed in RS, the GO shown association with RNA metabolism ($p = 0,009$). The functional annotations highlighted proteins/genes association with YY1 ($q = 5,00 \cdot 10^{-5}$) and JARID1A ($q = 0,02$). The PPI (*Figure 4*) shown that underexpressed proteins are involved in phagocytosis, complement regulation, cell cycle regulation and cellular response to DNA damage. Overexpressed proteins intervened in proteasome system and oxidative phosphorylation.

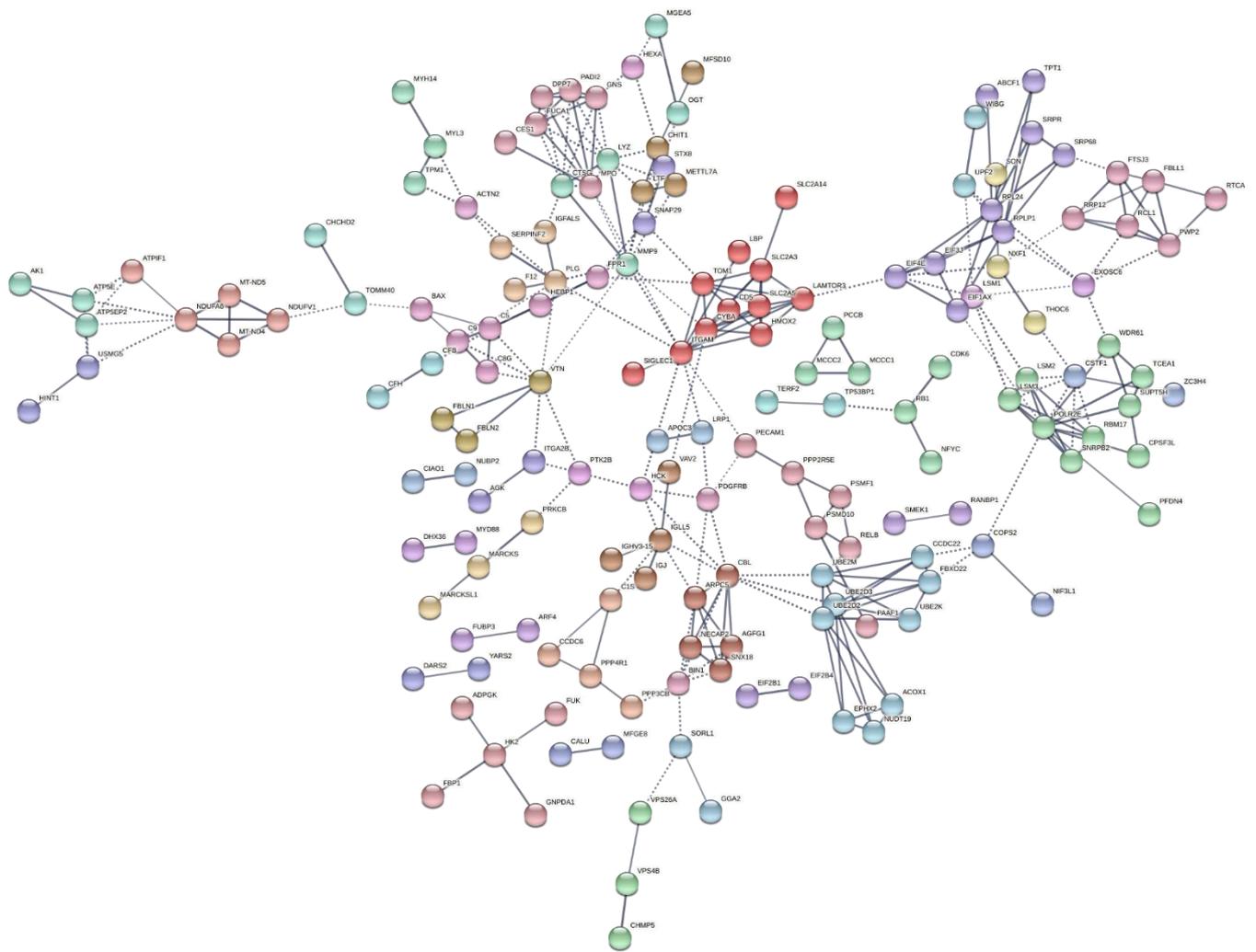


Figure 4 : PPI with 301 significant proteins in RS vs CS comparison.

RS vs CR

2,519 proteins were present in at least 5 samples. 155 proteins were significant including 75 overexpressed et 80 underexpressed in RS. Associations and enrichments are shown in *Appendix 2*. For proteins underexpressed in RS, GO shown match with inflammation ($p = 8. \times 10^{-13}$), complement activation ($p = 8.90 \times 10^{-4}$). Enrichments shown associations with complement and regulation cascade ($q = 2.66 \times 10^{-4}$). Functional annotations shown protein/gene association with EZH2 ($q = 3.59 \times 10^{-5}$), CEBPE ($q = 3.20 \times 10^{-3}$) et SPI1 ($q = 3.00 \times 10^{-3}$). Forproteins overexpressed in RS, functional annotations shown proteins/genes associations with SYK pathway ($q = 0.01$), BTK ($q = 0.02$), ERN1 ($q = 0.03$), ZAP-70 ($q = 0.03$), MAX ($q = 0.01$), POLR2A ($q = 0.02$), TAF1 ($q = 0.02$) and YY1 ($q = 0.03$). The PPI (*Figure 5*) shown that proteins underexpressed in RS intervened immunity regulation. Overexpressed proteins intervened in proteasome inhibition.

MYC ($q = 1.88 \times 10^{-4}$), MAX ($q = 0.05$), SYK ($q = 3.16 \times 10^{-6}$), BTK ($q = 3.16 \times 10^{-6}$), ZAP70 ($q = 1.97 \times 10^{-4}$), YY1 ($q = 0.02$) and FOXP3 ($q = 0.03$). The PPI (figure 7) shown that down proteins intervened in hemostasis and the up proteins intervened in immunity, lymphocyte proliferation, oxidative phosphorylation among others.

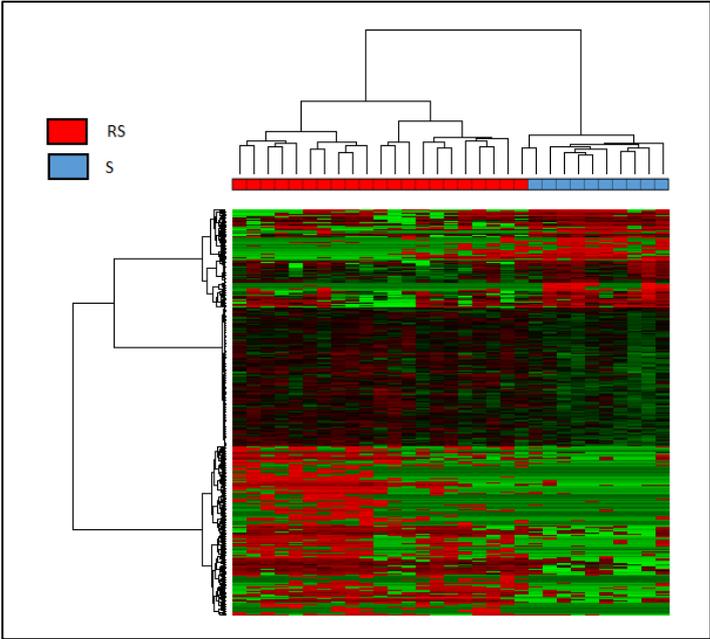


Figure 6 : Hierarchical classification of 206 significant proteins of RS in comparison with de novo DLBCL
20/21 (95%) of RS aggregate among themselves on a unique arm.

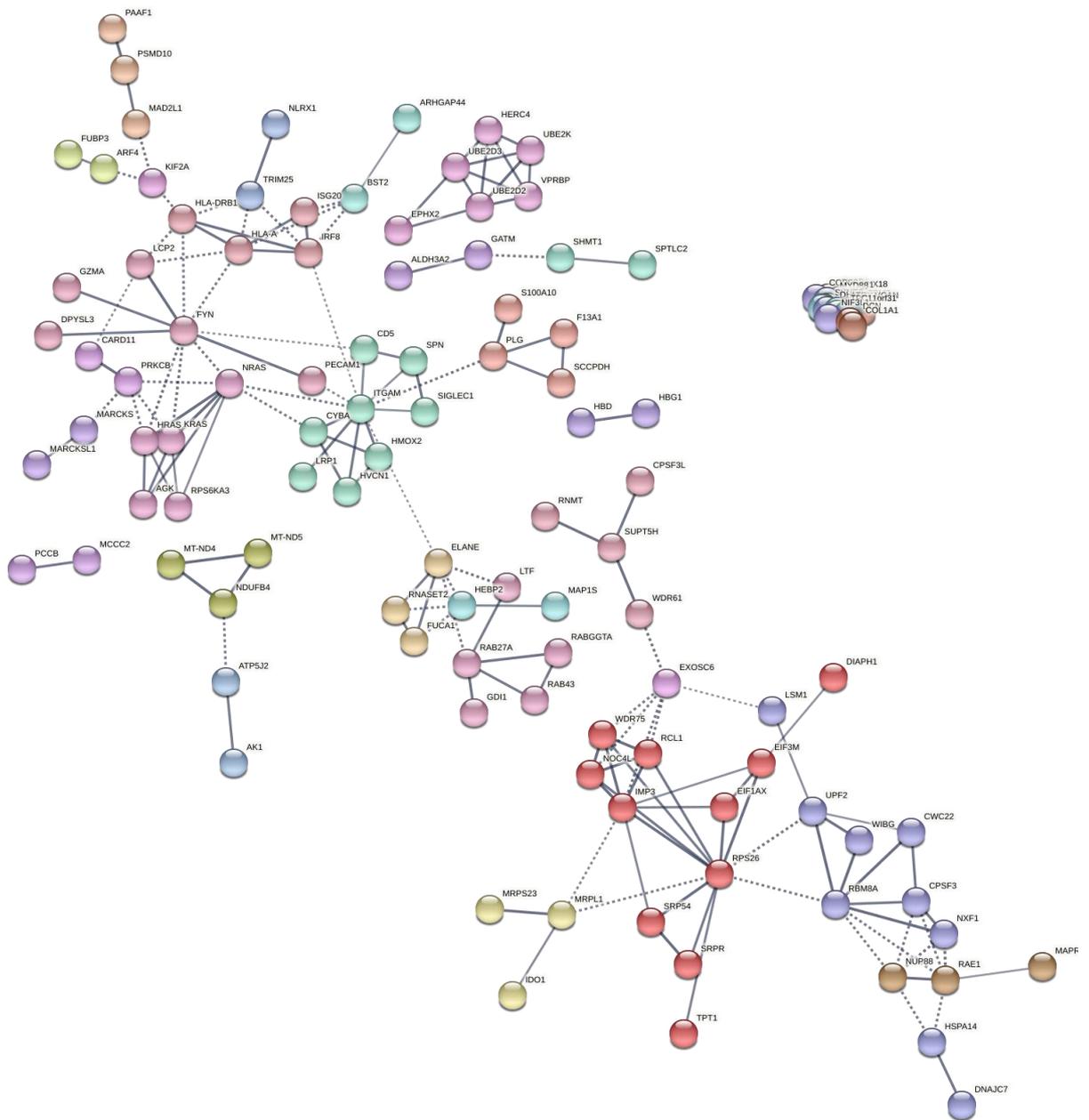


Figure 7 : PPI with 206 significant proteins in RS vs S comparison

CONCLUSION AND DISCUSSION

Although presenting with the same histological aspect, RS yielded an homogeneous and specific proteomic profile, different forms of *de novo* DLBCL and other secondary DLBCL. Based upon the number of differentially expressed proteins, RS profile is closer to CR *de novo* DLBCL, as compared with CS *de novo* DLBCLs.

Nowadays, it is recommended to treat RS with with a combination of Rituximab, Cyclophosphamide, Doxorubicine, Vincristin and Prednisone (R-CHOP) before hematopoietic stem cells transplantation⁵.

Analysis of proteins and pathways distinguishing RS from the other DLBCL groups suggests different mechanisms potentially explaining RS chemorefractoriness.

A dysfunction of inflammatory response

First, the Rituximab activity on CD-20 positive cells induced cell death with cytotoxicity and antibody-dependent cellular cytotoxicity mechanism. This toxicity depends on complement and inflammation activation^{24,25}. And we showed a downregulation of these two pathways in RS. Moreover the underexpression of CEBPE participate in diminution of inflammation response by inhibition of granulopoiesis²⁶.

Some drugs use or restore a functional inflammatory such PD-1 inhibitor or CAR-T cells therapy. This drug shown encouraging results²⁷⁻³⁰.

EZH2 inhibitor (Tazemostat) shown a clinical activity and favorable safety in patients with CR B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma³¹. It would be interesting to evaluate the effectiveness of this drug in RS. The Blinatumomab (BLINCYTO) is a bi-specific T-cell engaging (BiTE[®]) antibody construct that transiently links CD3-positive T cells to CD19-positive B-cells, inducing T-cell activation and subsequent lysis of tumor cells. A phase 2 clinical trial is underway to evaluate safety of Blinatumomab in RS (NCT03931642).

DNA repair mechanisms and ineffective apoptosis

The chemotherapy induces DNA damage and cell death. The overexpression of POLR2A play an important role in DNA transcription and repair³². Moreover, in colorectal cancer animals models, a diminution of POLR2A expression is associated with proliferation, survival, and cell tumorigenic potential inhibition³³.

YY1 has been described in the pathogenesis of several cancer types, in particular in DLBCL³⁴. This protein interacts with many others required for cell growth, apoptosis and cancer progression, including TP53, MDM2, EZH2, and RB^{35,36}. Its inhibition contributes to the sensitization of B-lineage Non Hodgkin Lymphoma cells to apoptosis³⁷.

Tumor progression

MYC is widely described as involved in RS pathogenesis⁵. MYC has a central role in the oncogenic process, orchestrating proliferation, apoptosis, differentiation, and metabolism. MAX (MYC-associated factor X) is co-factor of MYC. Overexpression of these two proteins in our data makes sense in this context, with regard to the literature.

ZAP-70 is functionally linked with CD38³⁸. Its expression has been described in CLL and its presence is correlated with unmutated IGVH status and is associated with a poor prognosis and an increased risk to develop RS^{1,39-41}.

Finally, BTK is widely described in RS⁵. This protein plays a crucial role in B-lymphocyte differentiation and activation: strongly associated with BCR, BTK activation induced B-cell

proliferation. BTK inhibitors are effective in CLL treatment⁴² and seems to be interesting drug with better complete remission rate in RS^{43,44}. A clinical trial is evaluating CHOP-R therapy, with or without Acalabrutinib (NCT03899337).

BIBLIOGRAPHY

1. Rossi, D. *et al.* Biological and clinical risk factors of chronic lymphocytic leukaemia transformation to Richter syndrome. *Br. J. Haematol.* **142**, 202–215 (2008).
2. Rossi, D. *et al.* Stereotyped B-cell receptor is an independent risk factor of chronic lymphocytic leukemia transformation to Richter syndrome. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **15**, 4415–4422 (2009).
3. Tsimberidou, A.-M. *et al.* Clinical outcomes and prognostic factors in patients with Richter's syndrome treated with chemotherapy or chemoimmunotherapy with or without stem-cell transplantation. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **24**, 2343–2351 (2006).
4. Parikh, S. A. *et al.* Diffuse large B-cell lymphoma (Richter syndrome) in patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL): a cohort study of newly diagnosed patients. *Br. J. Haematol.* **162**, 774–782 (2013).
5. Rossi, D., Spina, V. & Gaidano, G. Biology and treatment of Richter syndrome. *Blood* **131**, 2761–2772 (2018).
6. Rossi, D. *et al.* The genetics of Richter syndrome reveals disease heterogeneity and predicts survival after transformation. *Blood* **117**, 3391–3401 (2011).
7. Rossi, D. *et al.* Molecular history of Richter syndrome: origin from a cell already present at the time of chronic lymphocytic leukemia diagnosis. *Int. J. Cancer* **130**, 3006–3010 (2012).
8. Villamor, N. *et al.* NOTCH1 mutations identify a genetic subgroup of chronic lymphocytic leukemia patients with high risk of transformation and poor outcome. *Leukemia* **27**, 1100–1106 (2013).
9. Perrot, A. *et al.* A unique proteomic profile on surface IgM ligation in unmutated chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **118**, e1-15 (2011).
10. Fornecker, L.-M. *et al.* Multi-omics dataset to decipher the complexity of drug resistance in diffuse large B-cell lymphoma. *Sci. Rep.* **9**, 895 (2019).
11. Cheson, B. D. *et al.* Revised response criteria for malignant lymphoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **25**, 579–586 (2007).
12. Hans, C. P. *et al.* Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* **103**, 275–282 (2004).
13. Fornecker, L.-M. Développements méthodologiques en analyse protéomique pour la découverte et la validation de biomarqueurs dans les hémopathies lymphoïdes B de l'adulte. (Université de Strasbourg, 2016).

14. Muller, L., Fornecker, L., Van Dorsselaer, A., Cianférani, S. & Carapito, C. Benchmarking sample preparation/digestion protocols reveals tube-gel being a fast and repeatable method for quantitative proteomics. *Proteomics* **16**, 2953–2961 (2016).
15. Muller, L. Développements de méthodes de préparation d'échantillons pour l'analyse protéomique quantitative : application à la recherche de biomarqueurs de pathologies. Chimie analytique. (Université de Strasbourg, 2017).
16. Cox, J. & Mann, M. MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized p.p.b.-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification. *Nat. Biotechnol.* **26**, 1367–1372 (2008).
17. Cox, J. *et al.* Andromeda: a peptide search engine integrated into the MaxQuant environment. *J. Proteome Res.* **10**, 1794–1805 (2011).
18. The UniProt Consortium. UniProt: the universal protein knowledgebase. *Nucleic Acids Res.* **45**, D158–D169 (2017).
19. Caraux, G. & Pinloche, S. PermutMatrix: a graphical environment to arrange gene expression profiles in optimal linear order. *Bioinforma. Oxf. Engl.* **21**, 1280–1281 (2005).
20. Carvalho-Silva, D. *et al.* Open Targets Platform: new developments and updates two years on. *Nucleic Acids Res.* **47**, (2018).
21. Zeeberg, B. R. *et al.* GoMiner: a resource for biological interpretation of genomic and proteomic data. *Genome Biol.* **4**, R28 (2003).
22. Kuleshov, M. V. *et al.* Enrichr: a comprehensive gene set enrichment analysis web server 2016 update. *Nucleic Acids Res.* **44**, W90–97 (2016).
23. Szklarczyk, D. *et al.* STRING v10: protein–protein interaction networks, integrated over the tree of life. *Nucleic Acids Res.* **43**, D447–D452 (2015).
24. Shan, D., Ledbetter, J. A. & Press, O. W. Signaling events involved in anti-CD20-induced apoptosis of malignant human B cells. *Cancer Immunol. Immunother. CII* **48**, 673–683 (2000).
25. Weiner, G. J. Rituximab: mechanism of action. *Semin. Hematol.* **47**, 115–123 (2010).
26. Yamanaka, R. *et al.* Impaired granulopoiesis, myelodysplasia, and early lethality in CCAAT/enhancer binding protein epsilon-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **94**, 13187–13192 (1997).
27. Behdad, A. *et al.* PD-1 is highly expressed by neoplastic B-cells in Richter transformation. *Br. J. Haematol.* (2018).
28. He, R. *et al.* PD-1 Expression in Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma (CLL/SLL) and Large B-cell Richter Transformation (DLBCL-RT): A Characteristic Feature of DLBCL-RT and Potential Surrogate Marker for Clonal Relatedness. *Am. J. Surg. Pathol.* **42**, 843–854 (2018).

29. Jain, N. A Phase II Trial of Nivolumab Combined with Ibrutinib for Patients with Richter Transformation. in (ASH, 2018).
30. Turtle, C. J. *et al.* Durable Molecular Remissions in Chronic Lymphocytic Leukemia Treated With CD19-Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells After Failure of Ibrutinib. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **35**, 3010–3020 (2017).
31. Morschhauser, F. *et al.* Interim Report from a Phase 2 Multicenter Study of Tazemetostat, an EZH2 Inhibitor: Clinical Activity and Favorable Safety in Patients with Relapsed or Refractory B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* **17**, S380–S381 (2017).
32. Bregman, D. B. *et al.* UV-induced ubiquitination of RNA polymerase II: a novel modification deficient in Cockayne syndrome cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **93**, 11586–11590 (1996).
33. Liu, Y. *et al.* TP53 loss creates therapeutic vulnerability in colorectal cancer. *Nature* **520**, 697–701 (2015).
34. Castellano, G. *et al.* Yin Yang 1 overexpression in diffuse large B-cell lymphoma is associated with B-cell transformation and tumor progression. *Cell Cycle Georget. Tex* **9**, 557–563 (2010).
35. Shi, Y., Lee, J. S. & Galvin, K. M. Everything you have ever wanted to know about Yin Yang 1. *Biochim. Biophys. Acta* **1332**, F49-66 (1997).
36. Gordon, S., Akopyan, G., Garban, H. & Bonavida, B. Transcription factor YY1: structure, function, and therapeutic implications in cancer biology. *Oncogene* **25**, 1125–1142 (2006).
37. Ma, M.-P. *et al.* Mcl-1 and YY1 inhibition and induction of DR5 by the BH3-mimetic Obatoclax (GX15-070) contribute in the sensitization of B-NHL cells to TRAIL apoptosis. *Cell Cycle Georget. Tex* **10**, 2792–2805 (2011).
38. Deaglio, S. *et al.* CD38 and ZAP-70 are functionally linked and mark CLL cells with high migratory potential. *Blood* **110**, 4012–4021 (2007).
39. Ibrahim, S. *et al.* CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **98**, 181–186 (2001).
40. Deaglio, S. *et al.* CD38 is a signaling molecule in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood* **102**, 2146–2155 (2003).
41. Fangazio, M., De Paoli, L., Rossi, D. & Gaidano, G. Predictive markers and driving factors behind Richter syndrome development. *Expert Rev. Anticancer Ther.* **11**, 433–442 (2011).
42. Hallek, M. *et al.* iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood* **131**, 2745–2760 (2018).
43. Tsang, M. *et al.* The efficacy of ibrutinib in the treatment of Richter syndrome. *Blood* **125**, 1676–1678 (2015).
44. Hillmen, P. *et al.* Acalabrutinib Monotherapy in Patients with Richter Transformation from the Phase 1/2 ACE-CL-001 Clinical Study. *Blood* **128**, 60–60 (2016).

CONCLUSION ET DISCUSSION

Qualité des données

Les données anatomopathologiques et génétiques de notre cohorte de patients SR sont similaires avec celles publiées dans la littérature. En immunohistochimie, les cellules étaient CD5+ et EBV- dans la majorité des cas. Sur le plan du panorama mutationnel, 52 % des patients présentaient une mutation ou une délétion de *TP53* et 29 % une mutation de *NOTCH1* contre environ 60 % d'anomalies de *TP53* et 30 % de mutations de *NOTCH1* dans la littérature⁶.

Il s'agit de la première étude protéomique réalisée dans le SR. La quantité moyenne de protéines extraites par échantillons est de 1,65 mg pour une masse moyenne d'échantillon de 15,7 mg soit 10,6 % de masse extraite. La composition moyenne de protéines d'un tissu étant de 20 %, cela reflète une bonne efficacité de l'extraction protéique. De même, le coefficient de corrélation de Pearson moyen élevé à 0,87 témoigne lui aussi d'un protéome globalement similaire entre les échantillons et donc comparable : cela est en rapport avec le fait que nous travaillons sur une même maladie, le LBDGC, dans une même espèce, l'Homme.

Explications sur la chimiorésistance et l'agressivité du SR

A l'heure actuelle, il est recommandé de traiter un SR par une association d'immunochimiothérapie type Rituximab, Cyclophosphamide, Doxorubicine, Vincristine et Prednisone (R-CHOP)⁶. L'action de ces molécules est médiée par des mécanismes de cytotoxicité exercées par le système immunitaire pour le Rituximab (toxicité directe et *ADCC* [*Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*])²⁴, l'apoptose et des dégâts directs sur l'ADN pour la chimiothérapie^{14,15,18}.

Or nous avons mis en évidence que dans le SR il existe :

- Un probable échappement immunitaire avec une sous-expression significative de protéines de la réponse inflammatoire, du complément et de la voie CEBPE,
- Une surexpression de voies impliquées dans la réparation de l'ADN (POLR2A, YY1),
- Une surexpression de voies impliquées dans l'inhibition de l'apoptose (YY1, UBE2D3),
- Une surexpression de voies impliquées dans la prolifération cellulaire (BTK, SYK, ZAP-70, MYC, MAX) associée à une sous-expression de protéines de voies anti-oncogéniques (JDP2).

Limites

Homogénéité de la cohorte

La cohorte de patients n'était pas totalement homogène entre les groupes « LBDGC chimiosensibles (CS) et « LBDGC chimiorésistants (CR) puisque certains ont bénéficié d'un traitement selon le protocole R-CHOP et d'autres selon le protocole R-ACVBP. En 1^{ère} ligne, un patient a bénéficié d'une intensification thérapeutique suivie d'autogreffe dans le groupe CS, mais aucun dans le groupe CR.

Absence d'expression de PD-1

Les protéines intra membranaires sont difficilement extractibles dans le tampon de lyse utilisé. Cela peut expliquer que nous ne retrouvons pas la protéine PD-1 dans notre set de données, alors que cette dernière est retrouvée exprimée en immunohistochimie dans 80% des SR mais très rarement dans le LBDGC *de novo*^{7,8}. La question que nous nous étions posées était l'utilisation d'autres protocoles d'extraction, par exemple avec un tampon type Laemmli (habituellement utilisé pour réaliser des électrophorèses). Mais ce dernier contient une concentration en sodium trop élevée ce qui rend difficile l'ionisation dans le spectromètre de masse.

Biais lié à normalisation

La présence de nombreuses valeurs extrêmes des intensités d'expression des protéines et de nombreuses valeurs manquantes étaient à l'origine d'une grande distribution de la variance et de la médiane (*figure 2A*). Cela a rendu l'interprétation statistique difficile. Les données ont été « log2 transformées » ce qui a diminué l'influence de ces valeurs extrêmes tout en préservant les différences existantes entre les échantillons. Dans ce travail, nous avons choisi de décaler les valeurs vers 0. Cependant, d'autres protocoles de normalisation auraient pu être utilisés (*figure 2B*).

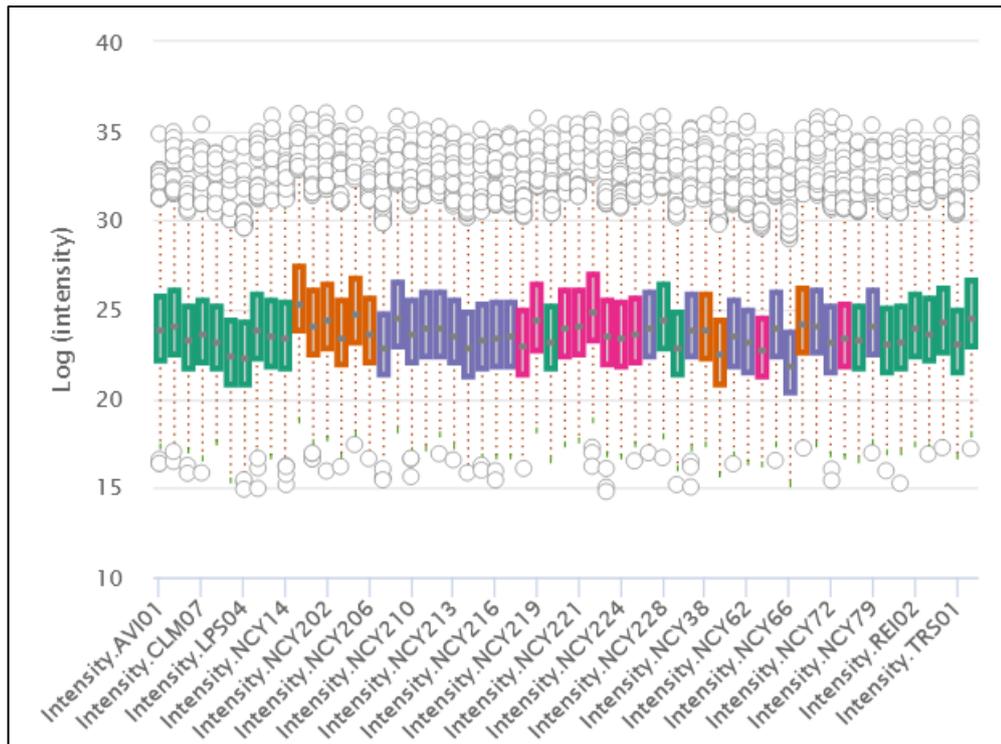


Figure 2A

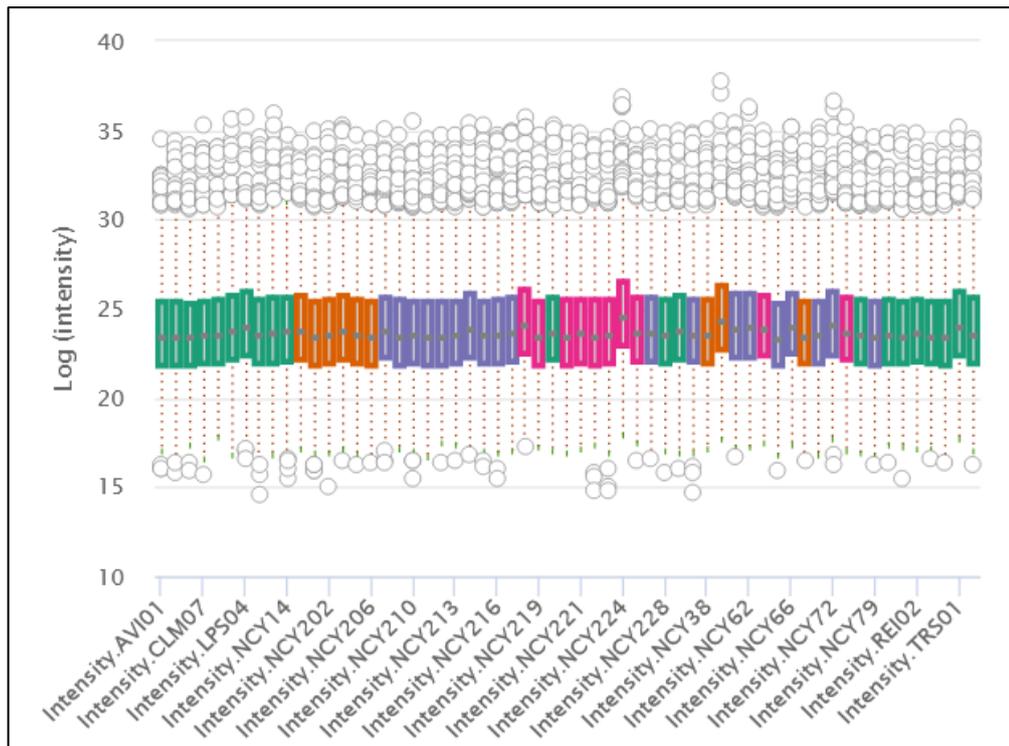


Figure 2B.

Figure 2 : Distribution des box plot des intensités d'expression des protéines en fonction des échantillons. 2A : Avant normalisation. 2B : exemple après normalisation selon la méthode VSN. Figures obtenues avec Prostar[®].

Biais lié à l'imputation

La *nanoLC-MS/MS*, permet une identification d'un très grand nombre de protéines de 4391 protéines non redondantes identifiées incluant 185 protéines qui n'avaient pas pu être quantifiées (valeurs manquantes dans tous les échantillons). Ces dernières ont été retirées des analyses. Sur les 4206 protéines restantes il restait cependant 53 % de valeurs manquantes (*figure 3A*). Dans ce travail nous avons filtré les protéines qui étaient non quantifiées dans au moins 5 échantillons (*figure 3B*). La base de données de protéines a ainsi été restreinte à 2685 protéines avec cependant la persistance de 36% de valeurs manquantes.

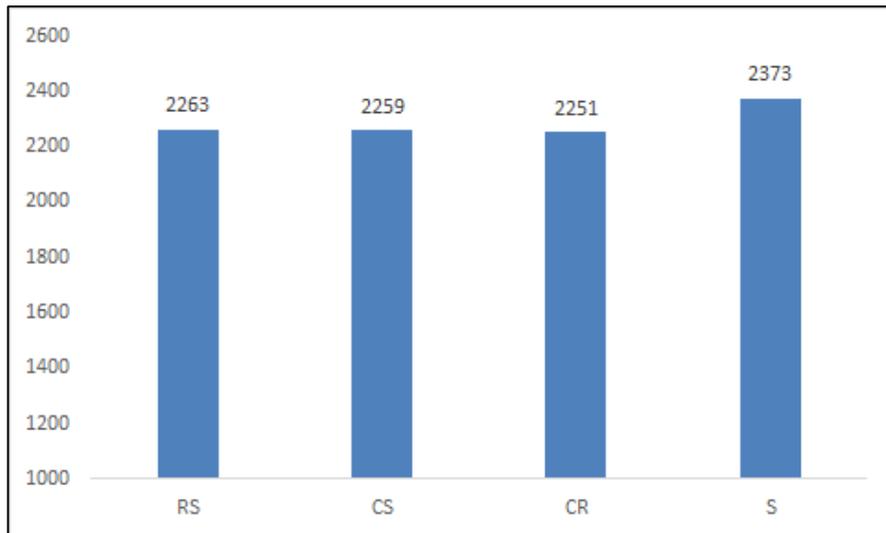


Figure 3A : Nombre moyen de valeurs manquantes par groupes sur la base des 4206 protéines. Le nombre moyen de valeurs manquantes était en moyenne de 2263 pour le groupe RS, 2259 pour le groupe CS, 2251 pour le groupe CR et 2373 pour le groupe S. Il n’y a pas de grande variation de la distribution des valeurs manquantes par rapport aux différents groupes. RS : syndrome de Richter. CS : LBDGC *de novo* chimiosensible ; CR : LBDGC *de novo* chimiorésistant. S : LBDGC secondaire hors Richter

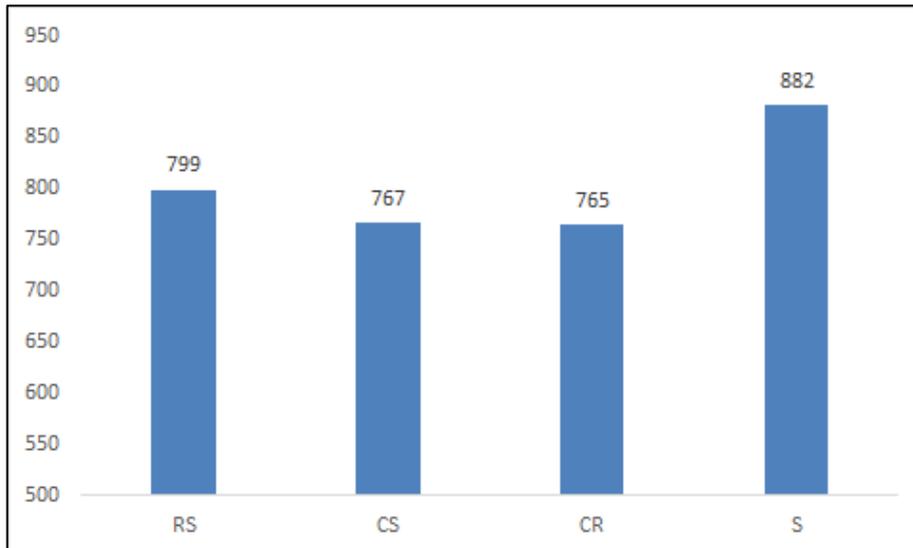


Figure 3B : Nombre moyen de valeurs manquantes par groupes sur la base des 2685 protéines (filtre : protéine présente dans au moins 5 échantillons). Après l’utilisation d’un filtre, le nombre moyen de valeurs manquantes diminuait à 799 pour le groupe RS, 767 pour le groupe CS, 765 pour le groupe CR et 882 pour le groupe S. RS : syndrome de Richter. CS : LBDGC *de novo* chimiosensible ; CR : LBDGC *de novo* chimiorésistant. S : LBDGC secondaire hors Richter

Nous avons extrapolé les valeurs manquantes en les remplaçant par une valeur proche de 0 (imputation par 0,05). Cela était basé sur le postulat qu'une valeur manquante avait un sens biologique, c'est-à-dire qu'une protéine non quantifiée dans l'échantillon n'existait pas. En fait cela n'est statistiquement pas le cas puisque qu'une protéine non quantifiée est (i) soit présente mais non vue liée au hasard (*Missing At Random - MAR*) par défaut de clivage de la Trypsine, défaut d'identification, défaut de passage dans le spectromètre (ii) soit véritablement absente (*Missing Not At Random - MNAR*).

Selon les résultats préliminaires de Sébastien Hergalant et Romain Piucco (INSERM 1256) sur la poursuite de ce travail, une imputation selon la méthode des plus proches voisins (*KNN - k-nearest neighbors*) pour les *MAR* ou par MinProb pour les *MNAR* sera plus performante (*figure 4*). Cette imputation doit se faire avec un filtre plus sévère pour éviter le biais de remplacement (protéines présentes dans au moins 25 % des échantillons, soit travail sur une nouvelle base de données de 1772 protéines).

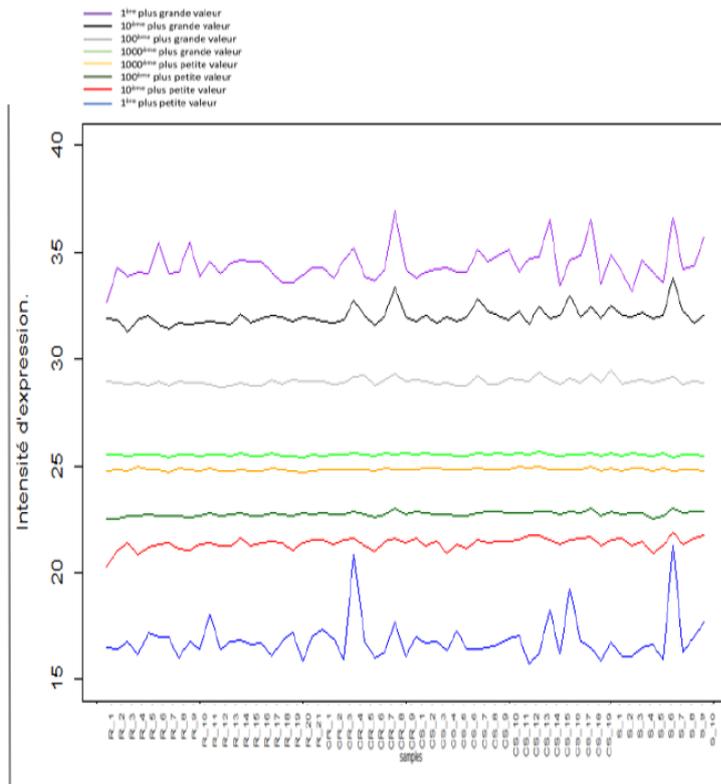


Figure 4A.

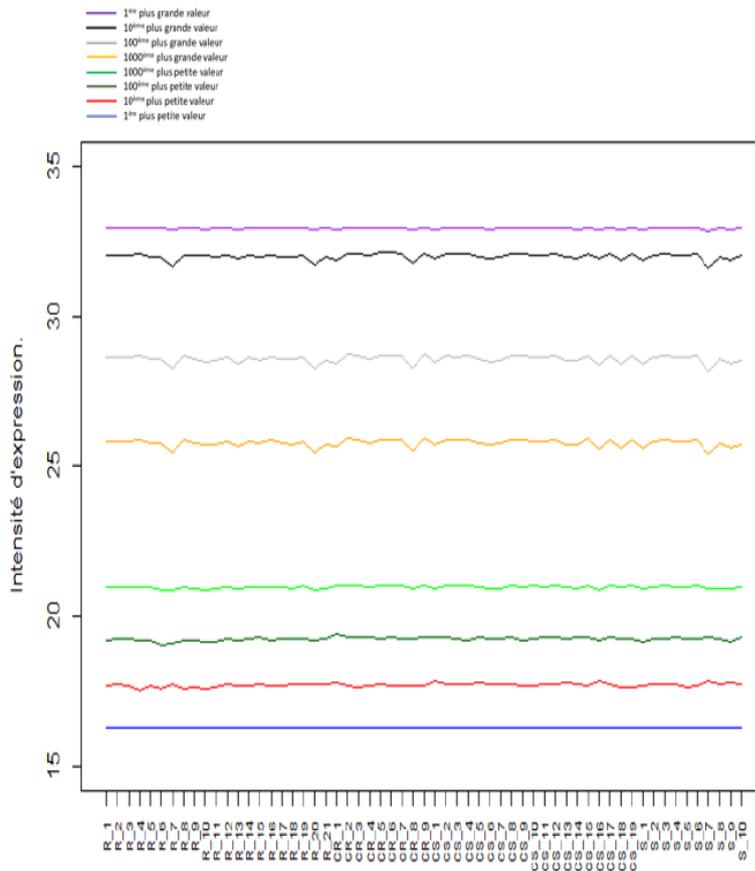


Figure 4B.

Figure 4 : Distribution des intensités d'expression des protéines de la plus petite valeur à la plus grande valeur, sur les données normalisées par VSN. 4A : avant imputation. 4B après imputation selon KNN. Figure obtenue d'après le mémoire de Romain PIUCCO (Développement d'outils bioinformatiques dédiés à l'analyse du protéome de patients atteints du syndrome de Richter)

Biais lié à un *p-value* non corrigée

Dans ce travail, la *p-value* obtenue par un *t-test* n'a pas été corrigée. Le risque est de conclure à l'existence d'une différence significative mais qui ne l'est du fait de la très grande variation des données d'un groupe à l'autre. Dans le cadre de la poursuite de ces travaux la *p-value* sera corrigée par la méthode de Benjamini Hochberg.

Absence de validation des données

Ces résultats demandent à être confirmés par une seconde méthode (pour une partie des protéines mises en évidence). L'immunohistochimie, qui est utilisé en routine, est parfaitement indiquée.

Données obtenues après nouveau protocole statistique

Les résultats présentés dans cette thèse sont préliminaires, l'analyse statistique nécessitant une validation. Ce travail a servi de base à la mise au point d'outils bioinformatiques dédiés à l'analyse du protéome.

Les travaux de Sébastien Hergalant et Romain Piucco (entre autres : normalisation selon la méthode *VSN*, imputation selon *KNN* et correction de la *p-value* par Benjamini Hochberg) trouvent des résultats avec des points communs avec ceux que nous venons de présenter :

- Sur expression de protéines impliquées dans la voie du BCR,
- Sur expression de protéines impliquées dans la phosphorylation oxydative
- Sous expression de protéines impliquée dans l'inflammation
- Sur expression de protéines impliquées dans le métabolisme des ARN.

PERSPECTIVES ET DIMENSIONS DU PROJET

Les résultats présentés ont fait l'objet d'une communication orale aux Journée des Jeunes Experts dans les Leucémies le 13 novembre 2019 à Toulouse organisées lors des 5^{èmes} journées du *FILLO*. Cette présentation a remporté le prix *FILLO*-Janssen et le prix SiLLC.

Un abstract a également été proposé pour une présentation des résultats au congrès de la Société Américaine d'Hématologie de décembre 2020.

BIBLIOGRAPHIE

1. Swerdlow, S. H. *et al.* The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* **127**, 2375–2390 (2016).
2. Richter, M. Generalized Reticular Cell Sarcoma of Lymph Nodes Associated with Lymphatic Leukemia. *Am J Pathol.* 1928 Jul; 4(4): 285–292.7. (1928).
3. Lortholary, P. *et al.* Chronic lymphoid leukemia secondarily associated with a malignant reticulopathy: richter's syndrome. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* **4**, 621–644 (1964).
4. Parikh, S. A. *et al.* Diffuse large B-cell lymphoma (Richter syndrome) in patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL): a cohort study of newly diagnosed patients. *Br. J. Haematol.* **162**, 774–782 (2013).
5. Rossi, D. *et al.* Biological and clinical risk factors of chronic lymphocytic leukaemia transformation to Richter syndrome. *Br. J. Haematol.* **142**, 202–215 (2008).
6. Rossi, D., Spina, V. & Gaidano, G. Biology and treatment of Richter syndrome. *Blood* **131**, 2761–2772 (2018).
7. Behdad, A. *et al.* PD-1 is highly expressed by neoplastic B-cells in Richter transformation. *Br. J. Haematol.* (2018).
8. He, R. *et al.* PD-1 Expression in Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma (CLL/SLL) and Large B-cell Richter Transformation (DLBCL-RT): A Characteristic Feature of DLBCL-RT and Potential Surrogate Marker for Clonal Relatedness. *Am. J. Surg. Pathol.* **42**, 843–854 (2018).
9. Rossi, D. *et al.* Stereotyped B-cell receptor is an independent risk factor of chronic lymphocytic leukemia transformation to Richter syndrome. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **15**, 4415–4422 (2009).
10. Mao, Z. *et al.* IgVH mutational status and clonality analysis of Richter's transformation: diffuse large B-cell lymphoma and Hodgkin lymphoma in association with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) represent 2 different pathways of disease evolution. *Am. J. Surg. Pathol.* **31**, 1605–1614 (2007).
11. Rossi, D. *et al.* The genetics of Richter syndrome reveals disease heterogeneity and predicts survival after transformation. *Blood* **117**, 3391–3401 (2011).
12. Tsimberidou, A.-M. *et al.* Clinical outcomes and prognostic factors in patients with Richter's syndrome treated with chemotherapy or chemoimmunotherapy with or without stem-cell transplantation. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **24**, 2343–2351 (2006).
13. Vogel, C. & Marcotte, E. M. Insights into the regulation of protein abundance from proteomic and transcriptomic analyses. *Nat. Rev. Genet.* **13**, 227–232 (2012).

14. Grzanka, D. *et al.* Actin reorganization in CHO AA8 cells undergoing mitotic catastrophe and apoptosis induced by doxorubicin. *Oncol. Rep.* **23**, 655–663 (2010).
15. Tacar, O., Sriamornsak, P. & Dass, C. R. Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *J. Pharm. Pharmacol.* **65**, 157–170 (2013).
16. Liu, T.-M. *et al.* Hypermorphic mutation of phospholipase C, γ 2 acquired in ibrutinib-resistant CLL confers BTK independency upon B-cell receptor activation. *Blood* **126**, 61–68 (2015).
17. Verrills, N. M., Walsh, B. J., Cobon, G. S., Hains, P. G. & Kavallaris, M. Proteome analysis of vinca alkaloid response and resistance in acute lymphoblastic leukemia reveals novel cytoskeletal alterations. *J. Biol. Chem.* **278**, 45082–45093 (2003).
18. Grzanka, G. Actin is required for cellular death. *Acta Histochem.* **115**, 775–782 (2013).
19. Bram Ednersson, S. *et al.* Expression of ribosomal and actin network proteins and immunochemotherapy resistance in diffuse large B cell lymphoma patients. *Br. J. Haematol.* **181**, 770–781 (2018).
20. Perrot, A. *et al.* A unique proteomic profile on surface IgM ligation in unmutated chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **118**, e1-15 (2011).
21. Cox, J. & Mann, M. MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized p.p.b.-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification. *Nat. Biotechnol.* **26**, 1367–1372 (2008).
22. Fornecker, L.-M. *et al.* Multi-omics dataset to decipher the complexity of drug resistance in diffuse large B-cell lymphoma. *Sci. Rep.* **9**, 895 (2019).
23. Fornecker, L.-M. Développements méthodologiques en analyse protéomique pour la découverte et la validation de biomarqueurs dans les hémopathies lymphoïdes B de l'adulte. (Université de Strasbourg, 2016).
24. Weiner, G. J. Rituximab: mechanism of action. *Semin. Hematol.* **47**, 115–123 (2010).

ANNEXES

Disease	P-value	Number of associated targets
HEMATOLOGIC DISEASE	1.00E-22	120
INFLAMMATION	2.00E-22	120
LYMPHOID NEOPLASM	3.00E-22	109
LYMPHOMA	1.00E-15	69
NON-HODGKIN LYMPHOMA	5.00E-10	37
Pathway	P-Value	Number of associated targets
REGULATION OF COMPLEMENT CASCADE	1.7E-08	13
INNATE IMMUNE SYSTEM	1.6E-06	37
Gene ontology	P-Value	Category
EXTRACELLULAR VESICLE	4.71E-19	Cellular component
EXTRACELLULAR EXOSOME	1.43E-18	Cellular component
POSITIVE REGULATION OF IMMUNE RESPONSE	1.43E-08	Biological process
COMPLEMENT ACTIVATION	1.10E-07	Biological process

Annex 1a : Open Target's associations results with 165 proteins underexpressed in RS vs CS comparison

TRANSCRIPTION	Adjusted p-value	SOURCE
MAFB	6.05E-06	ARCHS4 Coexp
JDP2	1.21E-05	ARCHS4 Coexp
EZH2	3.99E-05	TF Perturbations Followed by Expression
NR1I3	5.64E-04	Enrichr Submissions TF-Gene Co-occurrence
CEBPE	1.72E-03	Enrichr Submissions TF-Gene Co-occurrence
Pathways	Adjusted p-value	Source

COMPLEMENT AND COAGULATION CASCADE	2.32E-08	KEGG 2019 Human
COMPLEMENT CASCADE	1.32E-07	Reactome 2016
CLASSICAL COMPLEMENT PATHWAY	1.00E-03	BioCarta 2016
ONTOLOGY	Adjusted p-value	Source
REGULATION OF IMMUNE EFFECTOR PROCESS	2.60E-08	GO Biological Process 2018
REGULATION OF COMPLEMENT ACTIVATION	2.92E-08	GO Biological Process 2018
CYTOPLASMIC SEQUESTERING OF NFKB	5.44E-03	GO Biological Process 2018

Annex 1b : EnrichR's results with 165 proteins underexpressed in RS vs CS comparison

Disease	P-value	Number of associated targets
CANCER	2.00e-15	119
LYMPHOID NEOPLASM	1.00e-08	71
HEMATOLOGIC DISEASE	2.00e-08	79
CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA	4.00e-07	48
INFLAMMATION	4.00e-07	56
LYMPHOMA	2,00e-06	43
Pathway	P-value	Number of associated targets
PHOSPHATE BOND HYDROLYSIS BY NUDT PROTEINS	1.10e-05	1
METABOLISM OF RNA	0.009	18
Gene ontology	P-value	Category
MITOCHONDRION	6.25e-05	Cellular component

Annex 1c : Open Target's associations results with 136 proteins Up in RS vs CS

Transcription	Adjusted p-value	Source
YY1	5.00E-05	ENCODE and ChEA Consensus TFs from ChIP-X
TAF1	6.73E-04	ENCODE and ChEA Consensus TFs from ChIP-X
JARID1A	0.02	ChEA 2016
Ontology	Adjusted p-value	Source
MITOCHONDRION	0.01	GO Cellular Component 2018
B-LYMPHOCYTE	7.44E34	Jensen TISSUES

Annex 1d: EnrichR's results with 136 proteins Up in RS vs CS

Disease	P-value	Number of associated targets
DIGESTIVE SYSTEM DISEASE	3.00E-15	68
HEMATOLOGIC DISEASE	2;00E-14	61
LYMPHOID NEOPLASM	6.00E-13	54
INFLAMMATION	8.00E-13	47
LYMPHOMA	1.00E-09	35
ACUTE PROMYELOCYTIC LEUKEMIA	1.00E-08	27
Pathway	P-Value	Number of associated targets
NEUTROPHIL DEGRANULATION	3.20E-07	15
INNATE IMMUNE SYSTEM	6.00E-06	20
REGULATION OF COMPLEMENT CASCADE	1;30E-04	7
Gene ontology	P-Value	Category
EXTRACELLULAR EXOSOME	2.50E-09	Cellular component
LEUKOCYTE MEDIATED IMMUNITY	3.30E-07	Biological process
NEUTROPHIL DEGRANULATION	6;40E-05	Biological process
COMPLEMENT ACTIVATION, ALTERNATIVE PATHWAY	8;90E-04	Biological process

Annex 2a : Open Target's associations results with 79 proteins Down in RS vs CR

Transcription	Adjusted p-value	Source
EZH2	3.59e-05	Tf perturbations followed by expression
RNASE2	6.58e-05	Enrichr submissions tf-gene co-occurrence
CEBPE	3;20e-03	Enrichr submissions tf-gene co-occurrence
SPI1	3.00e-03	Chea 2016
Pathways	Adjusted p-value	Source
COMPLEMENT AND COAGULATION CASCADE	2;66e-04	Keeg 2019 human
REGULATION OF COMPLEMENT CASCADE	5.60e-03	Reactome 2016
Ontology	Adjusted p-value	Source
NEUTROPHIL MEDIATED IMMUNITY	1;81e-05	Go biological process 2018
REGULATION OF COMPLEMENT ACTIVATION	0.04	Go biological process 2018

Annex 2b : EnrichR's results with 79 proteins Down in RS vs CR

Disease	P-value	Number of associated targets
CANCER	1;00e-12	71
HEMATOLOGIC DISEASE	1;00e-08	51
LYMPHOID NEOPLASM	2;00e-08	46
CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA	4;00e-08	34
LYMPHOMA	2;00e-06	29
Pathway	P-value	Number of associated targets
PHOSPHATE BOND HYDROLYSIS BY NUDT PROTEINS	1;20e-06	1
Gene ontology	P-value	Category

CYTOSOL	1;80e-05	Cellular component
---------	----------	--------------------

Annex 2c : Open Target's associations results with 75 proteins Up in RS vs CR

Transcription	Adjusted p-value	Source
MAX	0;01	ENCODE TF ChIP-seq 2015
POLR2A	0;02	ENCODE TF ChIP-seq 2015
TAF1	0.02	ENCODE TF ChIP-seq 2015
TAF1	0;03	ENCODE and ChEA Consensus TFs from CHIP-X
YY1	0.04	ENCODE and ChEA Consensus TFs from CHIP-X
Pathways	Adjusted p-value	Source
SYK	0.01	ARCHS4 Kinases Coexp
BTK	0.02	ARCHS4 Kinases Coexp
ERN1	0.03	ARCHS4 Kinases Coexp
ZAP70	0;03	ARCHS4 Kinases Coexp
Ontology	Adjusted p-value	Source
B-LYMPHOCYTE	1.88E-18	Jensen TISSUES
MITOCHONDRION	0.02	GO Cellular Component 2018

Annex 2d: EnrichR's results with 75 proteins Up in RS vs CR

Disease	P-value	Number of associated targets
INFLAMMATION	1.00E-17	45
LYMPHOMA	6;00E-13	34
LYMPHOID NEOPLASM	3;00E-12	44
HEMATOLOGIC DISEASE	1;00E-11	47
NEOPLASM OF MATURE B-CELLS	3;00E-10	32

CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA	9;00E-09	30
Gene ontology	P-value	Category
VESICLE	1;95E-08	Cellular component

Annex 3a : Open Target's associations results with 61 proteins Down in RS vs S

Transcription	P-value	Adjusted p-value	Source
HEY2 (MOUSE)	7;15e-08	5.40e-06	Tf perturbations followed by expression
CREB3L1	3.81e-06	0.003	Archs4 tfs coexp
TWIST	3.79e-05	0;02	Archs4 tfs coexp
Pathways	P-value	Adjusted p-value	Source
PDGFRB	3;81e-06	9.50e-04	Archs4 kinases coexp
Onthology	P-value	Adjusted p-value	Source
B-LYMPHOCYTE	7.64e-09	2.00e-06	Jensen tissues

Annex 3b : EnrichR's results with 61 proteins Down in RS vs S

Disease	P-value	Number of associated targets
HEMATOLOGIC DISEASE	8.00E-16	99
LYMPHOID NEOPLASM	8.00E-15	88
LEUKEMIA	2.00E-12	73
CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA	6;00E-11	59
LYMPHOMA	1.00E-10	55
INFLAMMATION	2.00E-10	67
NEOPLASM OF MATURE B-CELLS	3.00E-08	53
DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA	3.00E-07	27
Pathway	P-value	Number of associated targets
ENDOSOMAL/VACUOLAR PATHWAY	1.1E-16	1

PD-1 SIGNALING	5.4E-14	1
Gene ontology	P-value	Category
CYTOSOL	1.67E-07	Cellular component

Annex 3c : Open Target's results with 145 proteins Up in RS vs S

Transcription	Adjusted p-value	Source
FOXP3	0.03	ChEA 2016
SPI1	0.05	ChEA 2016
ELF1	0.001	ENCODE and ChEA Consensus TFs from CHIP-X
YY1	0.002	ENCODE and ChEA Consensus TFs from CHIP-X
TAF1	0.004	ENCODE and ChEA Consensus TFs from CHIP-X
MYC	0;004	ENCODE and ChEA Consensus TFs from CHIP-X
MAX	0.005	ENCODE and ChEA Consensus TFs from CHIP-X
Pathways	Adjusted p-value	Source
T CELL RECEPTOR SIGNALING PATHWAY	0.001	KEGG 2019 Human
B CELL RECEPTOR SIGNALING PATHWAY	0.001	KEGG 2019 Human
MAP4K1	4;65E-06	ARCHS4 Kinase Coexp
ZAP70	1;97E-04	ARCHS4 Kinase Coexp
SYK	2;25E-04	ARCHS4 Kinase Coexp
BTK	3.15E-04	ARCHS4 Kinase Coexp
Ontology	Adjusted p-value	Source
MITOCHONDRION	0;05	GO cellular component 2018

B-LYMPHOCYTE	1;34-32	Jensen TISSUES
--------------	---------	----------------

Annex 3d : Enrichr's results with 145 proteins Up in RS vs S

VU

NANCY, le 19 septembre 2020
Le Président de Thèse

NANCY, le 21 septembre 2020
Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur Pierre FEUGIER

Professeur Marc BRAUN

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE/ 11395C

NANCY, le 24 septembre 2020

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE,

Professeur Pierre MUTZENHARDT

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

INTRODUCTION : Malgré les avancées majeures dans les études génomiques, les mécanismes biologiques d'agressivité dans le syndrome de Richter (SR) ne sont pas totalement compris.

MATERIELS ET METHODES : Pour comprendre ces mécanismes, nous avons pour la première fois comparé le protéome d'échantillons ganglionnaires congelés provenant de SR, de Lymphome B Diffus à Grandes Cellules (LBDGC) *de novo* (chimiosensible [CS] et chimioréfractaire [CR]) et d'autres LBDGC secondaires (S). Les protéines ont été extraites dans un tampon de lyse puis inclus dans un tube gel. L'identification et la quantification a été réalisée par une Spectrométrie de Masse en tandem couplée à une nanochromatographie en phase liquide (*nanoLC-MS/MS*). Les données brutes ont été analysées avec MaxQuant®. Nous avons comparé les annotations fonctionnelles, les enrichissements et les *Protein-Protein Interactions (PPI)* des protéines différentiellement exprimées.

RESULTATS : 59 échantillons ont été analysés dont 21 provenant d'un SR, 19 de LBDGC CS, 9 de LBDGC CR et 10 de LBDGC S. Le SR présente un profil protéomique caractéristique par rapport au LBDGC *de novo* ou secondaire dans 81 et 95 % des cas respectivement. La réponse inflammatoire et du complément est sous exprimée dans le SR. Par rapport au CR, le SR exprime des marqueurs de prolifération (MAX, $q = 0,01$; SYK, $q = 0,01$; BTK, $q = 0,02$; ZAP70 $q = 0,03$) et de réparation de l'ADN ou la dégradation de TP53 (POLR2A, $q = 0,02$; YY1, $q = 0,03$). Par rapport au CS, le SR exprime YY1 ($q = 5.10^{-5}$) et JARID1A ($q = 0,02$; impliqué dans la prolifération, l'invasion et la chimiorésistance).

CONCLUSION : Cette étude met en évidence des marqueurs impliqués dans l'agressivité de la maladie. Mais ces résultats sont en attente de confirmation.

TITRE EN ANGLAIS : Large-Scale Proteome Comparison With *de Novo* and other secondary DLBCLs Uncovers a Specific Signature in Richter Syndrome: A French Study from the FILO Group

THÈSE : Médecine Spécialisée, Année 2020

MOTS-CLEFS : Protéomique, Syndrome de Richter, LBDGC secondaire, Agressivité, Chimiorésistance

INTITULÉ ET ADRESSE :

Université De Lorraine
Faculté de Médecine de Nancy
9, avenue de la forêt de Haye
54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex