

Congrès de la SFH : Groupes coopérateurs

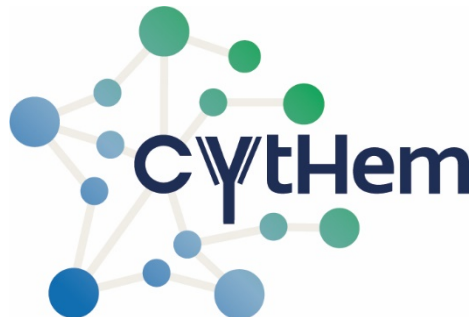
Sélection CytHem de communications orales « Jeunes cytométristes »

Palais des congrès de Paris

Mercredi 30 mars 2022

# Cytométrie en flux et marqueurs prédictifs de la réponse au traitement dans la LLC

*G. Couillez, T. Boyer*



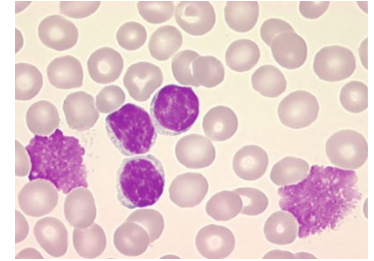
**Orateur: Guillaume Couillez**

Laboratoire d'Hématologie

CHU Amiens-Picardie

# Leucémie lymphoïde chronique (LLC)

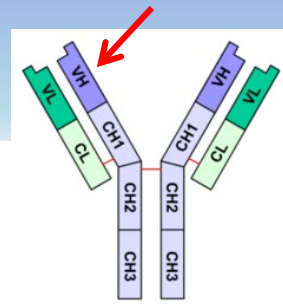
- Syndrome lymphoprolifératif B chronique
- Age median au diagnostic : 72 ans
- Sex ratio H/F = 1,7
- Prolifération de LyB clonaux matures (> 5 G/L avec score de Matutes ≥ 4)
- **Classification de Binet :**



Stade binet	Définition	
	Aires ganglionnaires palpables	Hémoglobine et plaquettes
A	< 3 aires	Hémoglobine ≥ 10 g/dl ou Plaquettes ≥ 100 000/mm <sup>3</sup>
B	≥ 3 aires	Hémoglobine ≥ 10 g/dl ou Plaquettes ≥ 100 000/mm <sup>3</sup>
C	Quel que soit le nombre d'aires	Hémoglobine < 10 g/dl ou Plaquettes < 100 000/mm <sup>3</sup>

- **Facteurs pronostiques orientant le choix thérapeutique :**
  - Statut mutationnel des immunoglobulines *IgVH* (Biologie moléculaire)
  - Délétion 17p (Cytogénétique) + Mutation *TP53* (Biologie moléculaire)

# 1- Statut mutationnel des *IgVH*

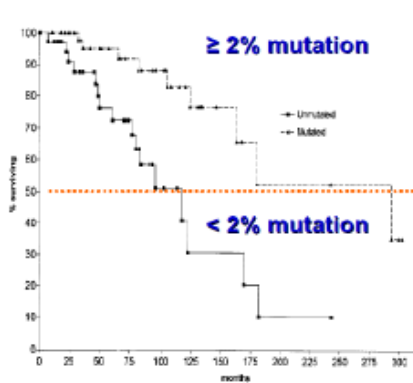


Facteur de mauvais pronostic

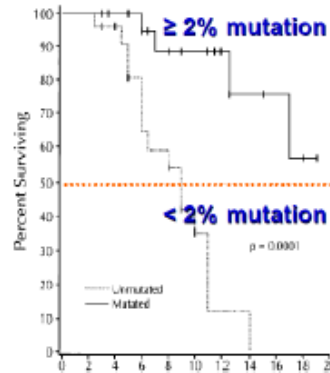
Facteur de sensibilité à certains traitements

- Gènes *IGHV* non mutés : associés à des formes de LLC plus agressives

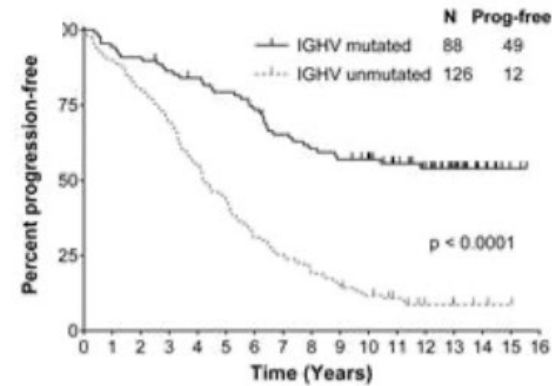
- Patients avec *IGHV* mutés : très bons répondeurs au traitement par RFC



Hamblin et al, Blood, 1999

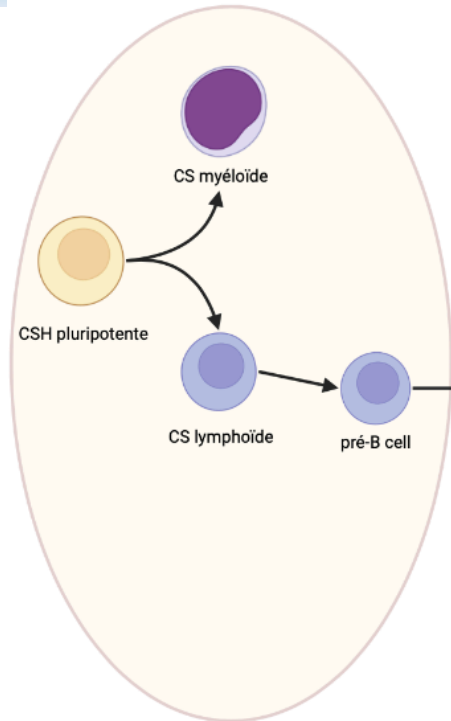


Damle et al, Blood, 1999

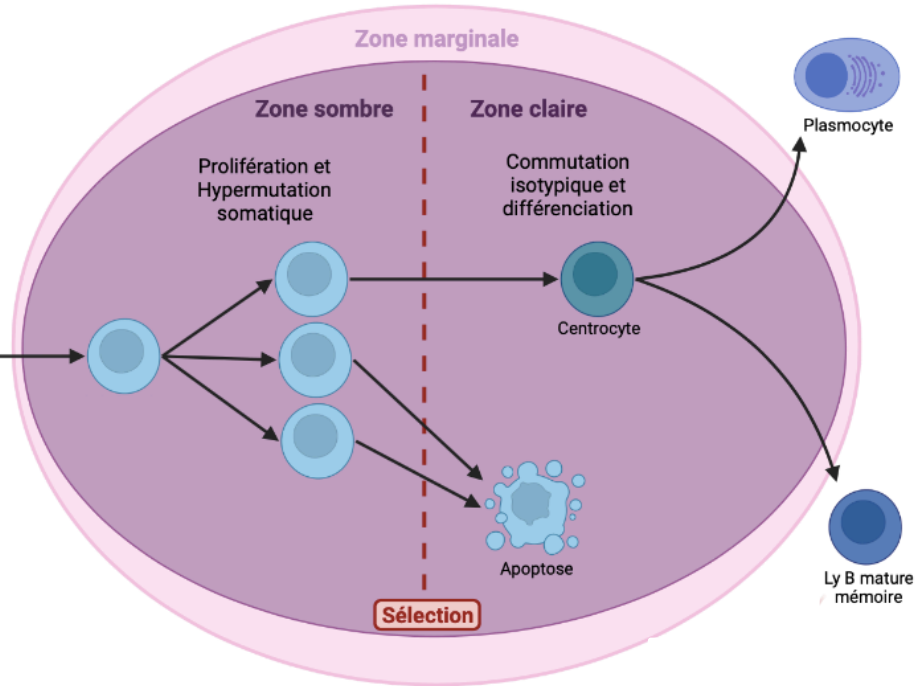


Thompson et al, Blood, 2016

## Moelle osseuse

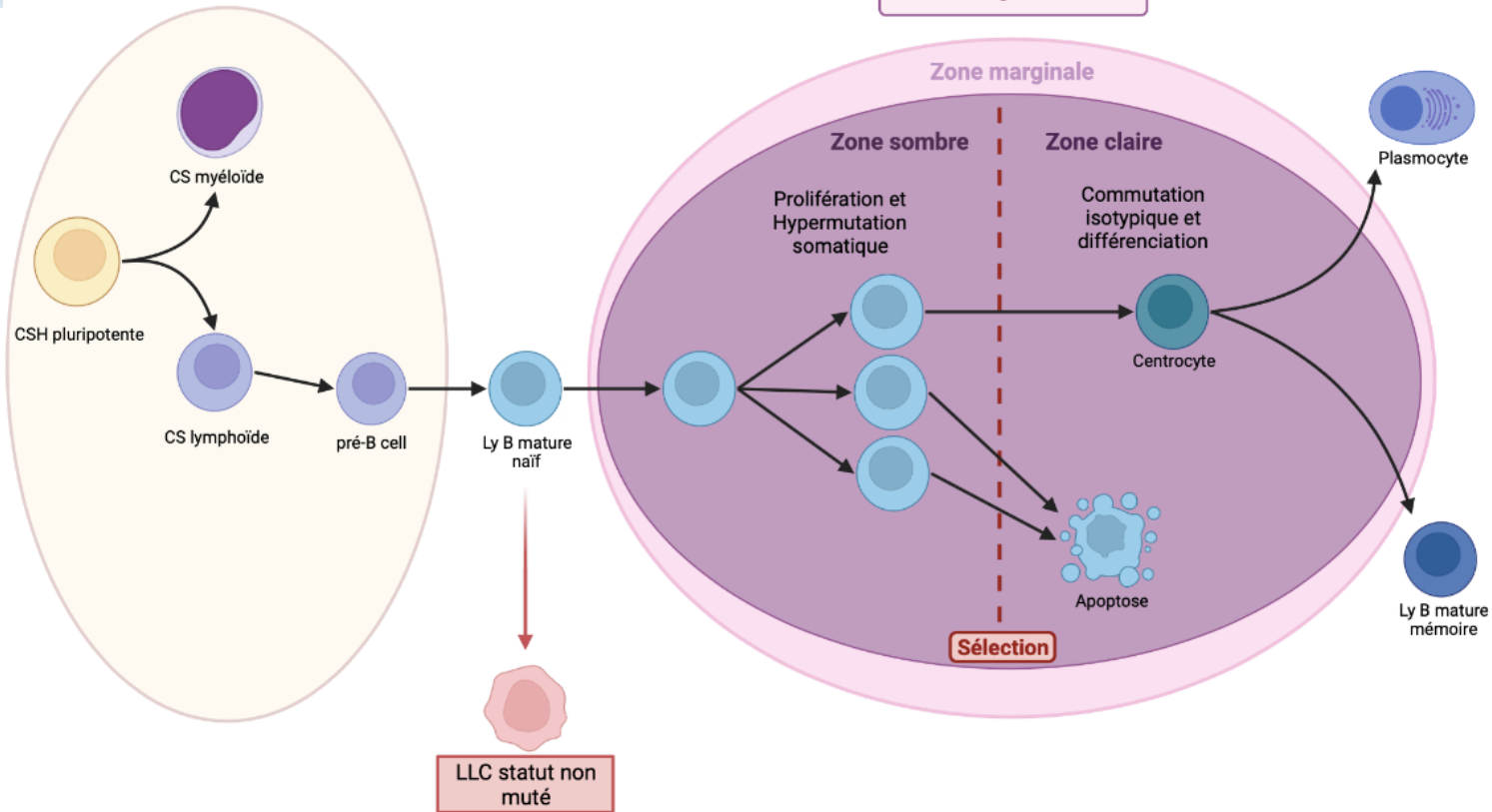


## Centre germinatif



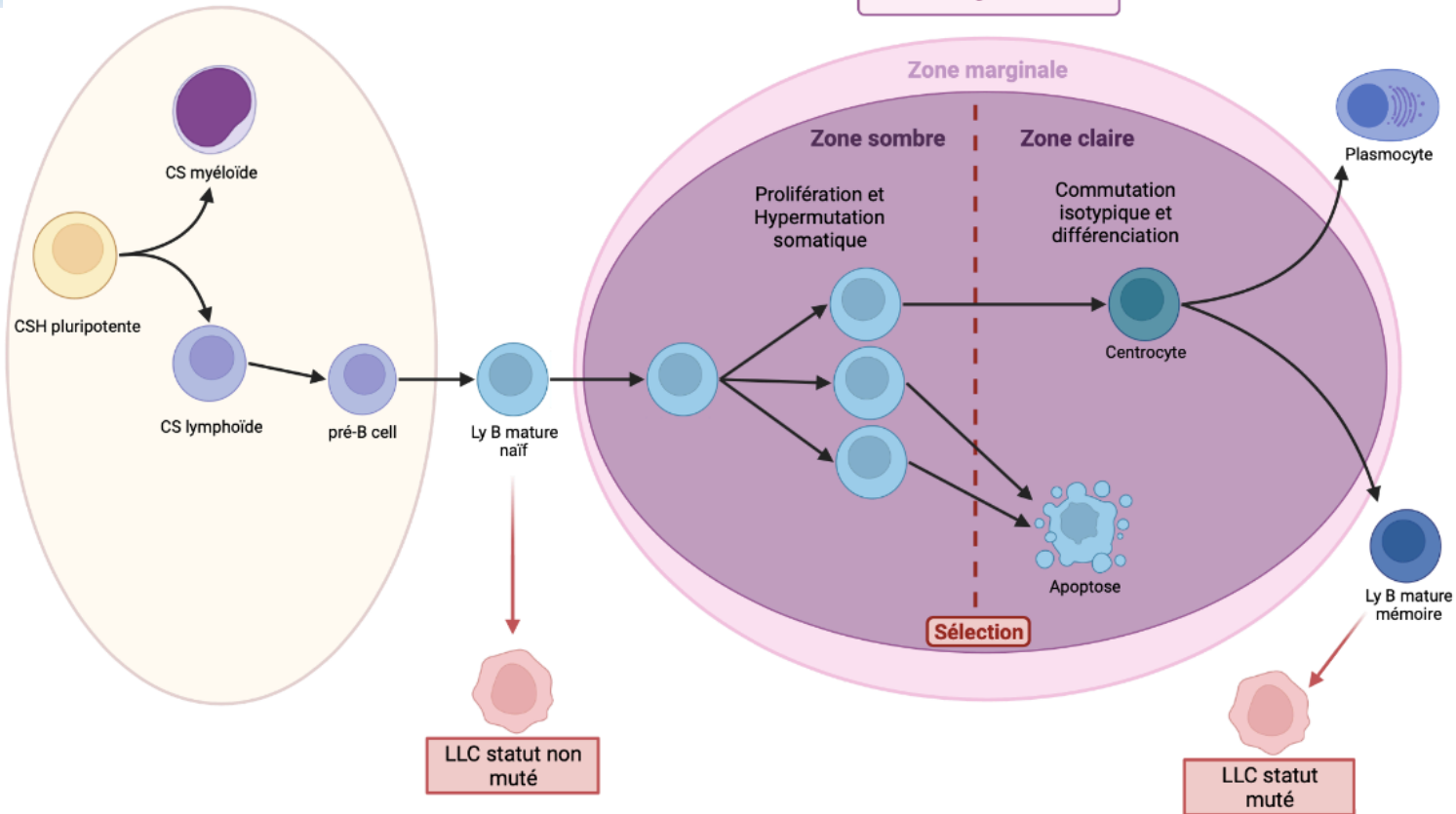
## Moelle osseuse

## Centre germinatif



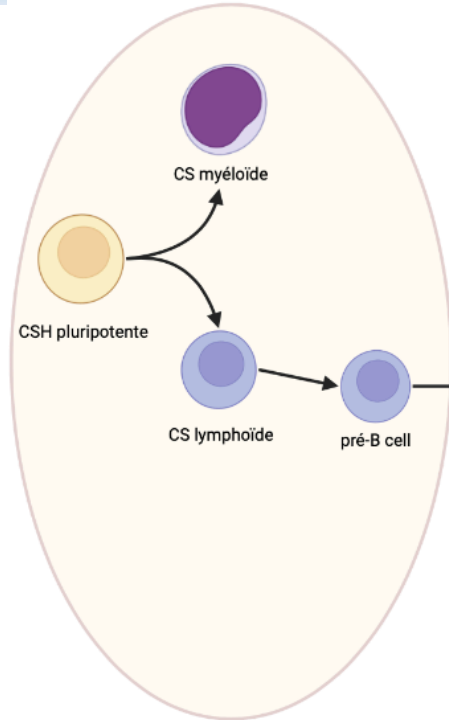
## Moelle osseuse

## Centre germinatif



Moelle osseuse

Centre germinatif



Agematsu K, Histol and Histopathol, 2000

2 sous-types de Ly B périphériques selon l'expression CD27 et IgD :

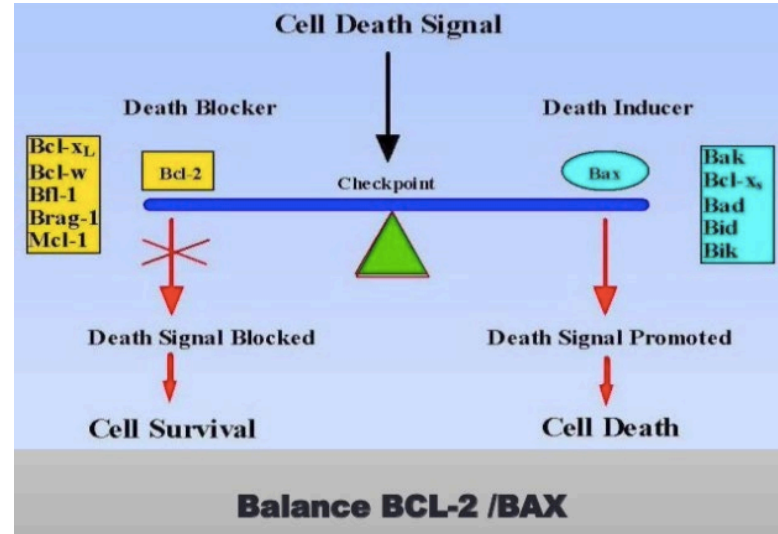
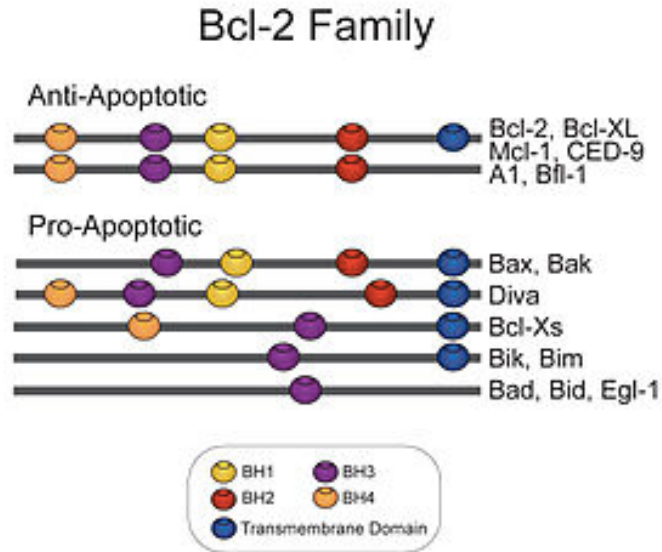
- Ly B naïfs : CD27- / IgD+
- Ly B mémoires switchés : CD27+ / IgD-

LLC statut non muté

LLC statut muté

# 2- Venetoclax

→ Inhibiteur sélectif de la protéine anti-apoptotique Bcl-2





# Résistance au Venetoclax

- Surexpression d'autres membres anti-apoptotiques de la famille BCL2 :

## Bcl-xl et Mcl-1

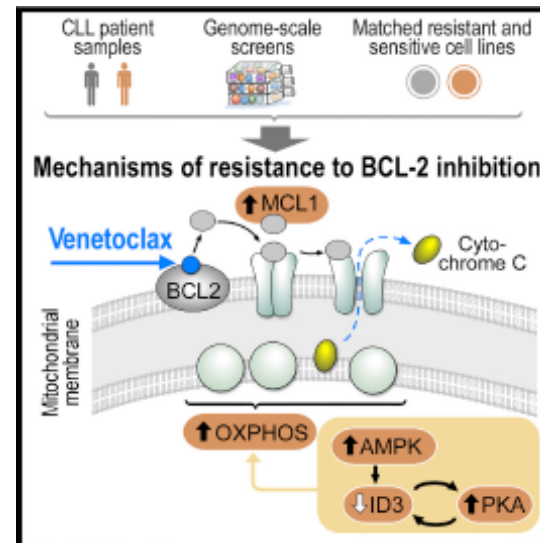
Choudhary GS et al, Cell Death and Disease, 2015

Guièze R et al, Cancer Cell, 2019

- Acquisition de mutation de *Bcl-2*

Blombery et al, Blood, 2020

- Modification du mécanisme oxydatif cellulaire



Guièze R et al, Cancer Cell, 2019

# Objectifs

- Principal :

Corréler les données de cytométrie en flux (clone avec profil B naïf ou B mémoire) avec le statut mutationnel des *IgVH* (biologie moléculaire)

- Secondaire :

Corréler la quantité de protéines Bcl-2, Mcl-1, Bcl-xl au diagnostic et/ou à la rechute par cytométrie en flux avec la réponse au venetoclax

# Matériels et Méthodes

- Etude non interventionnelle, rétrospective, monocentrique
- Analyses réalisées sur des culots cellulaires congelés lors du diagnostic de LLC par le laboratoire d'hématologie
- Cytomètre de flux : Navios (Beckman-Coulter)
- Panels d'anticorps utilisés :
  - Tube 1 : CD45, CD19, CD5, CD27, IgD -> Marquage membranaire classique
  - Tube 2 : CD45, CD19, CD5, Bcl-2, Bcl-xl, Mcl-1 -> Marquage membranaire + intracytoplasmique  
(Kit Fix&Perm de Fisher Scientific)

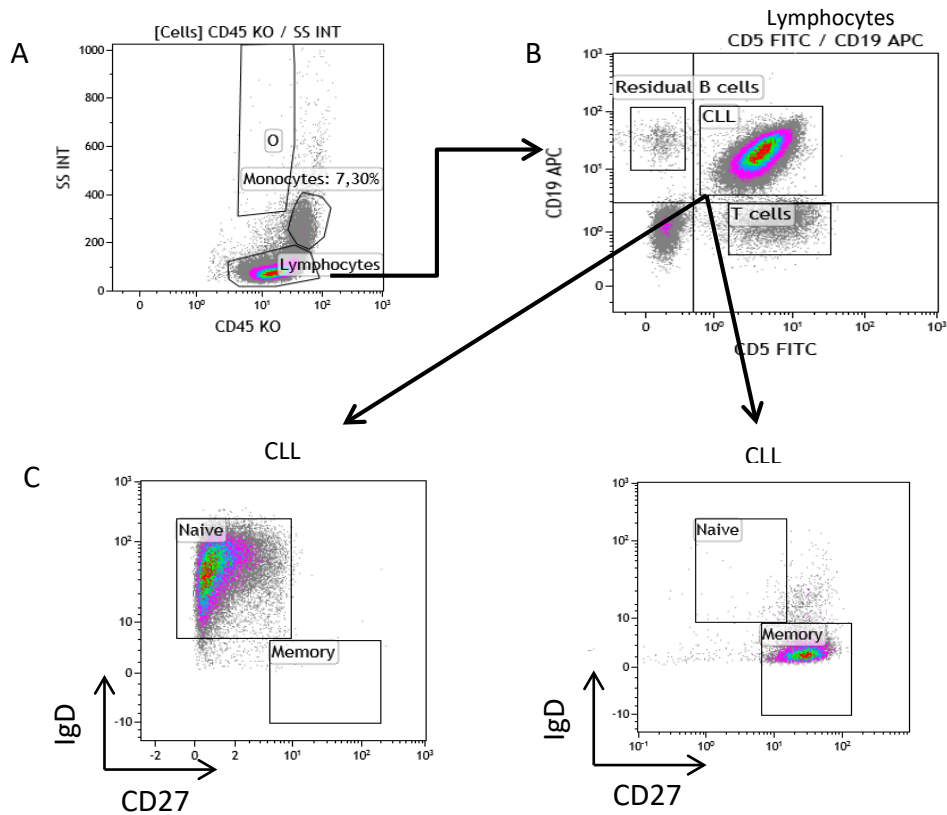
# Résultats

Au diagnostic :

	n = 98
Age médian	65 ans
Sexe ratio H/F	1,9
<b>Stade Binet :</b> A	81 (82,7%)
B	11 (11,2%)
C	6 (6,1%)
<b>Statut mutationnel <i>IgVH</i> :</b>	
Muté	53 (54,1%)
Non muté	45 (45,9%)
Anomalies <i>TP53</i>	20 (20,4%)
Traité*	57 (58,2%)

\* = RFC, R-Bendamustine, Ibrutinib, Venetoclax, G-Venetoclax, Acalabrutinib, G-Chloraminophène

# Tube 1



# Tube 1

		Profil lymphocytaire (CMF)		
		B naïf	B mémoire	
Statut IgVH (Bio Mol)	Muté	0	53	53
	Non muté	43	2	45
		43 (43,9%)	55 (56,1%)	98

Test de concordance du Chi2 :

$$p < 2,22 \times 10^{-16}$$

Sensibilité = 95,6%

Spécificité = 100%

# Tube 2

n = 92	Sous venetoclax	Pas de venetoclax	
	17,4% (n= 16)	82,6% (n= 76)	
Profil B naïf	75%	39,2%	p=0,020
%Bcl-2	89,54%	52,34%	p<0,001
%Mcl-1	12,20%	5,59%	p=0,054
%Bcl-xl	44,69%	50,30%	p=0,996

Sous venetoclax	n = 16
MRD à 1 an	50% (n= 8)
→ Rémission Complète	62,5% (n= 5/8)

# Conclusions / Perspectives

- Concordance entre la détermination du profil B mémoire/naïf en CMF  
VS le statut mutationnel *IgVH* obtenu en BioMol
- Avantages de la CMF au diagnostic :
  - Plus rapide (moins de 24h)
  - Peu coûteux
- Inclure davantage de patient sous venetoclax :
  - Local
  - Multicentrique



Merci de votre attention.

