

Académie d'Orléans –Tours  
Université François-Rabelais

## FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

Année 2013

N°

Thèse

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'Etat

Par

Marlène OCHMANN  
Née le 8 février 1983 à Orléans (45)

Présentée et soutenue publiquement le 3 octobre 2013

### TITRE

**Lymphomes B inclassables avec des caractéristiques intermédiaires entre le lymphome B diffus à grandes cellules et le lymphome de Burkitt : Evaluation rétrospective des caractéristiques cliniques et impact de l'intensification thérapeutique.**

### Jury

Président de jury : **Monsieur le Professeur Philippe COLOMBAT**  
Membres du jury : **Madame le Docteur Flavie ARBION**  
**Madame le Professeur Christiane COPIE-BERGMAN**  
**Madame le Dr Caroline DARTIGEAS**  
**Monsieur le Docteur Emmanuel GYAN**  
**Monsieur le Professeur Thierry LAMY DE LA CHAPELLE**

## ABSTRACT

The 2008 WHO classification has defined a new entity of lymphoma called B cell lymphoma unclassifiable with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and Burkitt lymphoma (BL). This very heterogeneous entity comprises all aggressive B-cell lymphomas displaying diverse morphology and immuno-phenotype characteristics. Some of them feature a *MYC* rearrangement alone or in combination with other rearrangement ("*double-hit*"). Many questions remain unanswered about this recently entity, mainly the prognosis of these lymphomas compared to DLBCL, the impact of intensified treatments like those used in BL on progression-free survival of patients diagnosed with these types of lymphoma?

We therefore conducted a retrospective study including 38 patients at the University Hospital of Tours and Clermont-Ferrand treated with standard chemotherapy or intensive chemotherapy including: 9 "*double-hit*", 12 "*single-hit MYC*", 12 cases without rearrangement and 5 DLBCL with a *MYC* rearrangement. Forty-eight patients were included in a DLBCL control group.

Patients with a diagnosis of B-cell lymphoma with intermediate features had initially a more aggressive clinical form: 39.5% had performance status  $\geq 2$ , 76.3% stage III-IV, bone marrow biopsy and the central nervous system were more frequently involved (34.2% and 10.5%), the number of extra-nodal sites was higher and the median LDH was 963UI/L. The GC profile was more frequent compared to DLBCL (79.3% against 54.8%,  $p = 0.04$ ). Median progression-free survival was 19.3 months [range: 3.9 to 36.4] in these B-cell lymphomas and not reached in DLBCL ( $p = 0.001$ ). Median overall survival was 26.9 months [range: 0 to 66.4] versus 94.8 months [range: 49.4 to 140.2] for DLBCL ( $p = 0.002$ ). There was no difference in overall survival but a trend towards improved progression-free survival in the group of patients treated intensively (not reached against 11.3 months [7.9 to 14.8] ( $p = 0.06$ )). Overall response was reached in 65.9% of patients treated with intensive chemotherapy against only 25% for others ( $p = 0.02$ ) and the relapse rate was significantly lower in these patients (11.5 % against 41.7%,  $p=0.049$ ).

This study confirms the worse prognosis of these patients. Furthermore patients with intermediate features seem to benefit from alternative treatments with higher dose-intensity. Further research on a larger cohort of patients or in a prospective study is needed.

**Key words:** B cell Lymphoma unclassifiable with features intermediate between diffuse large B-cell Lymphoma and Burkitt Lymphoma, *MYC* rearrangement, *BCL-2* rearrangement, *BCL-6* rearrangement, intensive chemotherapy.

## RESUME

La nouvelle classification OMS 2008 a défini une nouvelle entité nommée « lymphome B inclassable avec des caractéristiques intermédiaires entre le lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC) et le lymphome de Burkitt ». Cette entité est très hétérogène et comporte des lymphomes B agressifs avec diverses caractéristiques morphologiques et immunophénotypiques. Une partie d'entre eux arborent une translocation du gène *C-MYC* seul ou en association avec d'autres translocations (« *double-hit* »). Plusieurs questions restent en suspens concernant cette entité notamment leur pronostic par rapport aux LBDGC tout-venant et l'impact des traitements intensifs sur la survie sans progression des patients atteints de ce type de lymphome.

Nous avons réalisé une étude rétrospective, et inclus 38 patients du Centre Hospitalier Universitaire de Tours et de Clermont-Ferrand traités par une chimiothérapie standard ou intensive, comprenant 9 « *double-hit* », 12 « *simple-hit C-MYC* », 12 cas sans translocation ainsi que 5 LBDGC « *C-MYC* ». Quarante huit patients ont été inclus dans un groupe comparateur LBDGC.

Les patients avec un diagnostic de lymphome B intermédiaire se présentent initialement avec une forme clinique plus agressive : 39,5% ont un *performans status*  $\geq 2$ , 76,3% un stade III-IV, la moelle osseuse et le système nerveux central sont plus fréquemment envahis (34,2% et 10,5%), le nombre de localisations extra-nodales est plus élevé et le taux médian de LDH est de 963UI/L. Ils présentent plus fréquemment un profil GC par rapport aux LBDGC (79,3% contre 54,8%,  $p=0,04$ ). La médiane de survie sans progression est de 19,3 mois [3,9-36,4] dans les lymphomes B intermédiaires et non atteinte dans les LBDGC ( $p=0,001$ ). La médiane de survie globale des patients est de 26,9 mois [0-66,4] contre 94,8 mois [49,4-140,2] pour les LBDGC ( $p=0,002$ ). Il n'y a pas de différence de survie globale en fonction du type de chimiothérapie reçue mais une tendance à une meilleure survie sans progression dans le groupe de patients ayant reçu une intensification thérapeutique (non atteinte contre 11,3 mois [7,9-14,8] ;  $p=0,06$ ). Une réponse globale est obtenue chez 65,9% des patients traités par une chimiothérapie intensive contre seulement 25% pour les autres ( $p=0,02$ ) et le taux de rechute est significativement moins élevé chez ces patients (11,5% contre 41,7% ;  $p=0,049$ ).

Cette étude confirme le pronostic défavorable de ce type de lymphome. Par ailleurs, les patients présentant des caractéristiques intermédiaires semblent bénéficier d'une prise en charge thérapeutique différente et notamment d'une intensification thérapeutique. Une étude supplémentaire sur une cohorte de patients plus importante et/ou dans le cadre d'une étude prospective est nécessaire pour confirmer ces résultats.

**Mots clés :** lymphome B inclassable avec caractéristiques intermédiaires entre le lymphome B diffus à grandes cellules et le lymphome de Burkitt, translocation *C-MYC*, translocation *BCL-2*, translocation *BCL-6*, chimiothérapie intensive.

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS  
**FACULTE DE MEDECINE DE TOURS**

**DOYEN**

**Professeur Dominique PERROTIN**

**VICE-DOYEN**

Professeur Daniel ALISON

**ASSESEURS**

Professeur Daniel ALISON, Moyens  
Professeur Christian ANDRES, Recherche  
Professeur Christian BINET, Formation Médicale Continue  
Professeur Laurent BRUNEREAU, Pédagogie  
Professeur Patrice DIOT, Recherche clinique

**SECRETAIRE GENERALE**

Madame Fanny BOBLETER

\*\*\*\*\*

**DOYENS HONORAIRES**

Professeur Emile ARON (†) – 1962-1966  
*Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962*  
Professeur Georges DESBUQUOIS (†)- 1966-1972  
Professeur André GOUAZÉ - 1972-1994  
Professeur Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004

**PROFESSEURS EMERITES**

Professeur Alain AUTRET  
Professeur Jean-Claude BESNARD  
Professeur Patrick CHOUTET  
Professeur Guy GINIES  
Professeur Olivier LE FLOCH  
Professeur Chantal MAURAGE  
Professeur Léandre POURCELOT  
Professeur Michel ROBERT  
Professeur Jean-Claude ROLLAND

**PROFESSEURS HONORAIRES**

MM. Ph. ANTHONIOZ - A. AUDURIER – Ph. BAGROS - G. BALLON – P. BARDOS - J. BARSOTTI  
A. BENATRE - Ch. BERGER – J. BRIZON - Mme M. BROCHIER - Ph. BURDIN - L. CASTELLANI  
J.P. FAUCHIER - B. GRENIER – A. GOUAZE – M. JAN – P. JOBARD - J.-P. LAMAGNERE - F. LAMISSE – J.  
LANSAC – J. LAUGIER - G. LELORD - G. LEROY - Y. LHUINTE - M. MAILLET - Mlle C. MERCIER - E/H.  
METMAN – J. MOLINE - Cl. MORAINÉ - H. MOURAY - J.P. MUH - J. MURAT - Mme T. PLANIOL - Ph.  
RAYNAUD – J.C. ROLLAND – Ch. ROSSAZZA - Ph. ROULEAU - A. SAINDELLE - J.J. SANTINI - D.  
SAUVAGE - M.J. THARANNE – J. THOUVENOT - B. TOUMIEUX - J. WEILL.

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

MM.	ALISON Daniel.....	Radiologie et Imagerie médicale
	ANDRES Christian.....	Biochimie et Biologie moléculaire
	ANGOULVANT Denis.....	Cardiologie
	ARBEILLE Philippe.....	Biophysique et Médecine nucléaire
	AUPART Michel.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
	BABUTY Dominique.....	Cardiologie
Mme	BARILLOT Isabelle.....	Cancérologie ; Radiothérapie
MM.	BARIN Francis.....	Virologie
	BARON Christophe.....	Immunologie
Mme	BARTHELEMY Catherine.....	Pédopsychiatrie
MM.	BAULIEU Jean-Louis.....	Biophysique et Médecine nucléaire
	BERNARD Louis.....	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
	BEUTTER Patrice.....	Oto-Rhino-Laryngologie
	BINET Christian.....	Hématologie ; Transfusion
	BODY Gilles.....	Gynécologie et Obstétrique
	BONNARD Christian.....	Chirurgie infantile
	BONNET Pierre.....	Physiologie
Mme	BONNET-BRILHAULT Frédérique.....	Physiologie
MM.	BOUGNOUX Philippe.....	Cancérologie ; Radiothérapie
	BRILHAULT Jean.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	BRUNEREAU Laurent.....	Radiologie et Imagerie médicale
	BRUYERE Franck.....	Urologie
	BUCHLER Matthias.....	Néphrologie
	CALAIS Gilles.....	Cancérologie ; Radiothérapie
	CAMUS Vincent.....	Psychiatrie d'adultes
	CHANDENIER Jacques.....	Parasitologie et Mycologie
	CHANTEPIE Alain.....	Pédiatrie
	COLOMBAT Philippe.....	Hématologie ; Transfusion
	CONSTANS Thierry.....	Médecine interne ; Gériatrie et Biologie du vieillissement
	CORCIA Philippe.....	Neurologie
	COSNAY Pierre.....	Cardiologie
	COTTIER Jean-Philippe.....	Radiologie et Imagerie médicale
	COUET Charles.....	Nutrition
	DANQUECHIN DORVAL Etienne.....	Gastroentérologie ; Hépatologie
	DE LA LANDE DE CALAN Loïc.....	Chirurgie digestive
	DE TOFFOL Bertrand.....	Neurologie
	DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique ; médecine d'urgence
	DESTRIEUX Christophe.....	Anatomie
	DIOT Patrice.....	Pneumologie
	DOMENECH Jorge.....	Hématologie biologique
	DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague.....	Anatomie & Cytologie pathologiques
	DUMONT Pascal.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
	EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
	FAUCHIER Laurent.....	Cardiologie
	FAVARD Luc.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	FOUQUET Bernard.....	Médecine physique et de Réadaptation
	FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
	FRANMONT-HANKARD Gaëlle.....	Anatomie & Cytologie pathologiques
	FUSCIARDI Jacques.....	Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence
	GAILLARD Philippe.....	Psychiatrie d'Adultes
	GOGA Dominique.....	Chirurgie maxillo-faciale et Stomatologie
	GOUDEAU Alain.....	Bactériologie -Virologie ; Hygiène hospitalière
	GOUPILLE Philippe.....	Rhumatologie
	GRUEL Yves.....	Hématologie ; Transfusion
	GILLOTEAU Denis.....	Biophysique et Médecine nucléaire
	GUILMOT Jean-Louis.....	Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire
	GUYETANT Serge.....	Anatomie et Cytologie pathologiques
	HAILLOT Olivier.....	Urologie
	HALIMI Jean-Michel.....	Thérapeutique ; médecine d'urgence (Néphrologie et Immunologie clinique)
	HANKARD Regis.....	Pédiatrie
	HERAULT Olivier.....	Hématologie ; transfusion
	HERBRETEAU Denis.....	Radiologie et Imagerie médicale
Mme	HOMETT Caroline.....	Médecine interne, Gériatrie et Biologie du vieillissement
MM.	HUTEN Noël.....	Chirurgie générale
	LABARTE François.....	Pédiatrie
	LAFFON Marc.....	Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence
	LARDY Hubert.....	Chirurgie infantile

	LASFARGUES Gérard .....	Médecine et Santé au Travail
	LAURE Boris .....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
	LEBRANCHU Yvon .....	Immunologie
	LECOMTE Thierry.....	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
	LESCANNE Emmanuel .....	Oto-Rhino-Laryngologie
	LINASSIER Claude.....	Cancérologie ; Radiothérapie
	LORETTE Gérard .....	Dermato-Vénérologie
	MACHET Laurent .....	Dermato-Vénérologie
	MAILLOT François.....	Médecine Interne
	MARCHAND-ADAM Sylvain .....	Pneumologie
	MARRET Henri.....	Gynécologie et Obstétrique
	MARUANI Annabel.....	Dermatologie
	MEREGHETTI Laurent .....	Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
	MORINIERE Sylvain .....	O.R.L.
	MULLEMAN Denis.....	Rhumatologie
	PAGES Jean-Christophe.....	Biochimie et biologie moléculaire
	PAINAUD Gilles .....	Pharmacologie fondamentale, Pharmacologie clinique
	PATAT Frédéric .....	Biophysique et Médecine nucléaire
	PERROTIN Dominique.....	Réanimation médicale ; médecine d'urgence
	PERROTIN Franck.....	Gynécologie et Obstétrique
	PISELLA Pierre-Jean .....	Ophthalmologie
	QUENTIN Roland .....	Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
	ROBIER Alain.....	Oto-Rhino-Laryngologie
	ROINGEARD Philippe.....	Biologie cellulaire
	ROSSET Philippe .....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	ROYERE Dominique .....	Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction
	RUSCH Emmanuel.....	Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
	SALAME Ephrem .....	Chirurgie digestive
	SALIBA Elie .....	Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction
Mme	SANTIAGO-RIBEIRO Maria .....	Biophysique et Médecine Nucléaire
MM.	SIRINELLI Dominique .....	Radiologie et Imagerie médicale
	THIBAUT Gilles.....	Immunologie
	THOMAS-CASTELNAU Pierre.....	Pédiatrie
Mme	TOUTAIN Annick .....	Génétique
MM.	VAILLANT Loïc.....	Dermato-Vénérologie
	VELUT Stéphane.....	Anatomie
	WATIER Hervé .....	Immunologie.

### **PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE**

Mme LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie..... Médecine Générale

### **PROFESSEURS ASSOCIES**

MM. HUAS Dominique .....

LEBEAU Jean-Pierre.....

MALLET Donatien.....

POTIER Alain .....

### **MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mme ANGOULVANT Theodora.....

M. BAKHOS David .....

Mme BAULIEU Françoise .....

M. BERTRAND Philippe.....

Mme BLANCHARD Emmanuelle .....

BLASCO Hélène .....

MM. BOISSINOT Eric.....

DESOUBEAUX Guillaume .....

Mme DUFOUR Diane .....

M. EHRMANN Stephan .....

Mme FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie ...

M. GATAULT Philippe .....

Mme GAUDY-GRAFFIN Catherine.....

M. GIRAUDEAU Bruno.....

Mme GOUILLEUX Valérie.....

MM. GUERIF Fabrice.....

	GYAN Emmanuel.....	Hématologie, transfusion
	HOARAU Cyrille .....	Immunologie
	HOURIOUX Christophe .....	Biologie cellulaire
	LANOTTE Philippe.....	Bactériologie - Virologie ; Hygiène hospitalière
Mmes	LARTIGUE Marie-Frédérique .....	Bactériologie - Virologie ; Hygiène hospitalière
	LE GUELLEC Chantal.....	Pharmacologie fondamentale ; Pharmacologie clinique
	MACHET Marie-Christine .....	Anatomie et Cytologie pathologiques
MM.	PIVER Eric .....	Biochimie et biologie moléculaire
	ROUMY Jérôme .....	Biophysique et médecine nucléaire in vitro
Mme	SAINT-MARTIN Pauline.....	Médecine légale et Droit de la santé
MM.	SAMIMI Mahtab .....	Dermatologie
	TERNANT David.....	Pharmacologie – toxicologie
Mme	VALENTIN-DOMELIER Anne-Sophie ..	Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière
M.	VOURC'H Patrick.....	Biochimie et Biologie moléculaire

### **MAITRES DE CONFERENCES**

Mmes	BOIRON Michèle .....	Sciences du Médicament
	ESNARD Annick .....	Biologie cellulaire
M.	LEMOINE Maël .....	Philosophie
Mme	MONJAUZE Cécile.....	Sciences du langage - Orthophonie
M.	PATIENT Romuald.....	Biologie cellulaire

### **MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE**

Mmes	HUAS Caroline.....	Médecine Générale
	RENOUX-JACQUET Cécile .....	Médecine Générale
M.	ROBERT Jean .....	Médecine Générale

### **CHERCHEURS C.N.R.S. – INSERM**

M.	BOUAKAZ Ayache.....	Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS-INSERM 930
Mmes	BRUNEAU Nicole .....	Chargée de Recherche INSERM – UMR CNRS-INSERM 930
	CHALON Sylvie .....	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS-INSERM 930
MM.	COURTY Yves.....	Chargé de Recherche CNRS – U 618
	GAUDRAY Patrick.....	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
	GOUILLEUX Fabrice .....	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
Mmes	GOMOT Marie.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR CNRS-INSERM 930
	HEUZE-VOURCH Nathalie.....	Chargée de Recherche INSERM – U 618
MM.	LAUMONNIER Frédéric .....	Chargé de Recherche INSERM - UMR CNRS-INSERM 930
	LE PAPE Alain.....	Directeur de Recherche CNRS – U 618
Mmes	MARTINEAU Joëlle.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR CNRS-INSERM 930
	POULIN Ghislaine .....	Chargée de Recherche CNRS – UMR CNRS-INSERM 930

### **CHARGES D'ENSEIGNEMENT**

#### ***Pour la sémiologie***

Mme	CRINIÈRE Lise .....	Praticien Hospitalier
MM.	BOULIN Thierry .....	Praticien Hospitalier
	GAROT Denis .....	Praticien Hospitalier
Mmes	MAGNAN Julie.....	Praticien Hospitalier
	MERCIER Emmanuelle.....	Praticien Hospitalier

#### ***Pour l'Ecole d'Orthophonie***

Mme	DELORE Claire .....	Orthophoniste
MM.	GOUIN Jean-Marie .....	Praticien Hospitalier
	MONDON Karl.....	Praticien Hospitalier
Mme	PERRIER Danièle.....	Orthophoniste

#### ***Pour l'Ecole d'Orthoptie***

Mme	LALA Emmanuelle.....	Praticien Hospitalier
M.	MAJZOUB Samuel.....	Praticien Hospitalier

#### ***Pour l'Ethique Médicale***

Mme	BIRMELE Béatrice.....	Praticien Hospitalier
-----	-----------------------	-----------------------

# SERMENT D'HIPPOCRATE

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

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

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

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

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

## REMERCIEMENTS

A mon Président de thèse, Monsieur le Professeur Philippe Colombat,

Merci de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse et d'avoir accepté de juger ce travail.

Merci de m'avoir accueillie dans votre service. Votre encadrement et l'ambiance chaleureuse qui règne dans votre service ont participé à mon épanouissement dans l'exercice de l'Hématologie.

A mon directeur de thèse, Monsieur le Docteur Emmanuel Gyan,

Merci d'avoir accepté de m'encadrer pour ce travail et de m'avoir guidée dans sa rédaction. Merci également pour ta disponibilité, ton soutien, tes conseils pertinents et bienveillants à mon égard tout au long de mon internat.

A Monsieur le Professeur Thierry Lamy de la Chapelle,

Merci d'avoir accepté de juger mon travail et de faire partie de mon jury de thèse. C'est un réel plaisir de venir travailler au sein de votre équipe, merci de me faire confiance pour le clinicat.

A Madame le Professeur Christiane Copie-Bergmann,

Christiane, merci de me faire l'honneur de vous compter parmi mon jury de thèse. Merci pour votre gentillesse, votre disponibilité tout au long de mon année de master 2.

A Madame le Docteur Caroline Dartigeas,

Caroline, merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury. Merci de m'avoir permis d'apprendre autant à tes côtés, de m'avoir fait profiter de ton expérience, pour ton écoute et tes conseils.

A Madame le Docteur Flavie Arbion,

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail. Merci également pour votre aide précieuse dans le recueil des données anatomopathologiques.

Au Service d'Hématologie de Tours,

Séverine et Marc, merci de m'avoir permis d'apprendre à vos côtés.

Marjan, le peu de temps passé à tes côtés m'a montré ta générosité et ta bienveillance. Merci pour tes conseils et ta disponibilité.

Merci à tous les médecins des services d'oncologie, de radiothérapie et de réanimation médicale de Tours mais également du service d'hématologie de Rennes pour avoir contribué à ma formation.

Merci au Professeur Karen Leroy pour cette formidable année passée à travailler à ses côtés.

A toutes les équipes soignantes et secrétaires que j'ai rencontrées durant mon internat, en particulier celles du Service d'Hématologie de Tours. Travailler au sein de ces équipes a été pour moi une véritable source d'enrichissement et d'évolution, aussi bien professionnels que personnels.

Aux belles rencontres de mon internat,  
Pierre, avec qui j'ai fait mes premiers pas en tant qu'interne,  
Aurore et François, mes collègues d'hématologie,  
Claire, François, Joseph, Benoit : la réanimation a été un peu plus douce avec vous,  
Guillemette qui m'a chaperonné au CORAD,  
Elsa, Aline et Sophie qui m'ont chaleureusement accueillie à Rennes.

A mes amies,  
Hélène M et Hélène V, merci d'être des amies aussi bienveillantes,  
Claire qui a été ma co-interne, ma chef de clinique et surtout une amie à l'écoute,  
Amélie, quelle chance de t'avoir eu comme complice pour la préparation l'ENC,  
Sandrine et Delphine, merci d'être de fidèles amies.

A mes parents  
Vous m'accompagnez depuis toujours avec bienveillance, et vous m'avez offert un soutien inébranlable tout au long de mes études de médecine. Merci pour tout.

A mes sœurs,  
Elsa, merci pour ton soutien à toute épreuve.  
Aurélia, merci pour tes leçons de persévérance.

A ma famille : mon oncle Michel et tous mes cousins.

A Carlos, merci pour ton soutien sans faille et ton amour. Merci également à ta famille qui m'a accompagnée toutes ces années.

A mon oncle Jean Pierre qui me manque.

# SOMMAIRE

<b>ABRÉVIATIONS .....</b>	<b>4</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>6</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>8</b>
1) Lymphomes agressifs.....	8
a) Lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC) .....	8
i) Définition, épidémiologie, présentation clinique.....	8
ii) Facteurs pronostiques.....	9
(a) Cliniques.....	9
(b) Cytogénétiques .....	10
(c) Immunohistochimiques .....	10
(d) GC/non-GC [microarray et immunohistochimie (IHC)].....	11
iii) Lymphomagénèse du LBDGC .....	14
iv) Traitement .....	16
v) Physiopathologie de la résistance aux traitements.....	17
(a) GC/ABC .....	17
(b) <i>C-MYC</i> .....	18
(c) Perspectives : identification de molécules sensibilisantes .....	18
b) Lymphome de Burkitt (LB) .....	19
i) Définition, épidémiologie, présentation clinique.....	19
ii) Facteurs pronostiques.....	20
iii) Lymphomagénèse : facteur de transcription C-Myc et EBV .....	21
iv) Réarrangements de <i>C-MYC</i> .....	23
v) Traitement .....	24
c) Lymphomes intermédiaires .....	25
i) Définition double hit, notion de « <i>Burkitt like</i> ».....	25
ii) Physiopathologie des doubles translocations.....	27

iii) Pronostic des « lymphomes B non classables avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB » et des lymphomes « <i>double-hit</i> » .....	27
iv) Traitement .....	29
2) Synthèse et question posée.....	31
a) Synthèse.....	31
b) Question posée.....	32
<b>PATIENTS ET METHODES.....</b>	<b>33</b>
1) Méthodologie de l'étude .....	33
2) Objectif principal de l'étude .....	33
3) Objectifs secondaires de l'étude.....	33
4) Critères d'inclusion .....	34
5) Critères d'exclusion .....	34
6) Aspects éthiques.....	34
7) Recueil des données cliniques.....	34
8) Recueil des données anatomopathologiques et cytogénétiques .....	35
9) Immunohistochimie .....	35
10) Analyse cytogénétique et FISH.....	36
11) Statistiques .....	36
<b>RESULTATS .....</b>	<b>37</b>
1) Caractéristiques des groupes .....	37
a) Nombre de patients identifiés .....	37
b) Caractéristiques cliniques et biologiques des patients au diagnostic .....	38
c) Caractéristiques anatomopathologiques et immunophénotypiques des patients au diagnostic.....	38
d) Caractéristiques cytogénétiques des lymphomes B intermédiaires .....	40
e) Traitement des lymphomes B intermédiaires .....	43
2) Taux de réponse au traitement .....	45
a) LBDGC et lymphomes intermédiaires .....	45
b) Taux de réponse en fonction du type de traitement dans les lymphomes intermédiaires .....	45
3) Mortalité et toxicités des traitements .....	46
4) Survie sans progression des patients atteints de lymphome intermédiaire.....	46

a)	Comparaison avec les LBDGC.....	46
b)	Survie sans progression en fonction des caractéristiques cliniques et biologiques.....	47
c)	Survie sans progression en fonction des caractéristiques immunohistochimiques.....	48
d)	Survie sans progression en fonction des caractéristiques cytogénétiques.....	49
e)	Impact du traitement intensif dans les lymphomes intermédiaires.....	50
f)	Facteurs pronostiques de survie sans progression.....	51
5)	Survie globale des patients atteints de lymphomes B intermédiaires.....	51
a)	Comparaison avec les LBDGC.....	51
b)	Survie globale en fonction des caractéristiques cliniques et biologiques.....	51
c)	Survie globale en fonction des caractéristiques immunohistochimiques.....	53
d)	Survie globale en fonction des caractéristiques cytogénétiques.....	54
e)	Impact du traitement intensif dans les lymphomes B intermédiaires.....	54
f)	Facteurs pronostiques de survie globale.....	55
	<b>DISCUSSION.....</b>	<b>56</b>
1)	Translocation du gène <i>C-MYC</i> .....	56
2)	Algorithme de Hans.....	57
3)	Algorithme diagnostique.....	57
4)	C-Myc et immunohistochimie.....	58
5)	Caractéristiques cliniques, immunohistochimiques et survie des lymphomes B avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB.....	59
a)	Lymphomes « <i>double-hit</i> ».....	59
b)	Lymphomes B non classables avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB.....	61
c)	Caractéristiques immunohistochimiques.....	61
d)	Survie.....	61
6)	Traitement des lymphomes B avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB.....	65
7)	Nouveautés.....	67
	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>70</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>71</b>
	<b>ANNEXES.....</b>	<b>78</b>

## ABRÉVIATIONS

**ACVBP** : Adriamycine, Cyclophosphamide, Vindésine, Bléomycine, Prednisone

**ADN** : Acide désoxyribonucélique

**AICDA** : *Activation-induced cytidine deaminase*

**ARN** : Acide ribonucléique

**ATM** : *Ataxia Telangiectasia Mutated*

**BCL6** : *B-cell lymphoma 6 protein*

**BCL2** : *B-cell lymphoma 2 protein*

**BCL11A** : *B-cell lymphoma 11A protein*

**BCR** : Récepteur des cellules B

**BH3** : *Bcl-2 homology 3*

**BOM** : Biopsie ostéo-médullaire

**CARD11** : *Caspase recruitment domain-containing protein 11*

**CHOP** : Cyclophosphamide, Doxorubicine, Vincristine, Prednisone

**COP** : Cyclophosphamide, Vincristine, Prednisone

**CODOX-M** : Cyclophosphamide, Vincristine, Doxorubicine, Méthotrexate

**COPADM** : Cyclophosphamide, Vincristine, Prednisone, Doxorubicine, Méthotrexate

**CycloBEAP** : Cyclophosphamide, Vincristine, Bleomycine, Etoposide, Doxorubicine, Prednisone

**DA-EPOCH** : *Dose Adjusted* Etoposide, Doxorubicine, Vincristine, Cyclophosphamide

**DH** : *Double-hit*

**LBDGC** : Lymphome B diffus à grandes cellules

**EBNA** : *Epstein-Barr virus Nuclear Antigen*

**EBV** : *Epstein Barr Virus*

**ESHAP** : Etoposide, Methylprednisolone, Cytarabine, Cisplatine

**FISH** : *Fluorescent In Situ Hybridization*

**FOXP1** : *Forkhead box protein P1*

**GELA** : Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte

**GOELAMS** : Groupe Ouest-Est des Leucémies Aigues et Maladies du Sang

**Hyper-CVAD** : Hyperfractionnement : Cyclophosphamide, Vincristine, Doxorubicine, Méthotrexate, Cytarabine

**ICE** : Ifosfamide, Carboplatine, Etoposide

**Ig** : Immunoglobuline

**IHC** : Immunohistochimie

**IPI** : Index Pronostic International

**IVAC** : Ifosfamide, Vepeside, Cytarabine

**LB** : Lymphome de Burkitt

**LFA-1** : *Leucocyte function associated antigen-1*

**LMO2** : *LIM domain only 2*

**LMP** : *Latent Membrane Protein*

**MTX** : Méthotrexate

**MUM1** : *Multiple Myeloma oncogen 1*

**MYD88** : *Myeloid differentiation primary response gene 88*

**NF- $\kappa$ B** : *Nuclear factor kappa B*

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PAX5** : *Pair Box protein 5*

**PS** : *Performans Status*

**RAG1/2** : *Recombination activation gene*

**RC** : Réponse complète

**R-CEEP** : Rituximab, Eldisine, Epirubicine, Cyclophosphamide

**RCP** : Réunion de Concertation Pluridisciplinaire

**R-DHAP** : Rituximab, Cytarabine, Cisplatine, Dexaméthasone

**R-ICE** : Rituximab, Ifosfamide, Carboplatine, Etoposide

**RP** : Réponse partielle

**SG** : Survie globale

**SNC** : Système nerveux central

**SSP** : Survie sans progression

**TEP** : Tomographie par émissions de positons

**VIH** : Virus de l'Immunodéficience humaine

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Coupes anatomopathologiques des 3 sous types de LBDGC .....	9
<b>Figure 2</b> : Profil d'expression génique des LBDGC et différences de survie des sous-groupes .....	12
<b>Figure 3</b> : Algorithme de Hans .....	13
<b>Figure 4</b> : Anomalies génétiques responsables de la lymphomagénèse du LBDGC.....	15
<b>Figure 5</b> : Signal BCR et mutations.....	16
<b>Figure 6</b> : Coupes anatomopathologiques de lymphome de Burkitt.....	20
<b>Figure 7</b> : Activité transcriptionnelle de C-Myc et de ses co-facteurs.....	21
<b>Figure 8</b> : Conséquences directes et indirectes de la surexpression du gène <i>C-MYC</i> .....	22
<b>Figure 9</b> : Translocations chromosomiques dans le LB .....	24
<b>Figure 10</b> : Caractéristiques immuno-phénotypiques des différents types de lymphomes agressifs .....	26
<b>Figure 11</b> : A : Courbe de survie globale des LBDGC arborant une translocation de <i>C-MYC</i> , B : Courbe de survie globale des lymphomes DH en comparaison aux LB et aux LBDGC.....	28
<b>Figure 12</b> : Diagramme représentant la nouvelle classification des cas de lymphomes après relecture des comptes-rendus anatomopathologiques.....	37
<b>Figure 13</b> : SSP des lymphomes intermédiaires et des LBDGC tous traitements confondus .....	47
<b>Figure 14</b> : SSP en analyse univariée des lymphomes B intermédiaires en fonction de l'IPI.....	48
<b>Figure 15</b> : SSP des patients en fonction de la translocation du gène <i>C-MYC</i> .....	49
<b>Figure 16</b> : SSP des lymphomes intermédiaires en fonction du caractère « <i>double hit</i> », « <i>simple hit</i> » et des LBDGC avec translocation du gène <i>C-MYC</i> .....	49
<b>Figure 17</b> : SSP des lymphomes intermédiaires selon le type de traitement.....	50
<b>Figure 18</b> : SSP des lymphomes intermédiaires selon le type de traitement, comparaison avec la SSP des LBDGC .....	50
<b>Figure 19</b> : SG des lymphomes intermédiaires et des LBDGC tous traitements confondus.....	51
<b>Figure 20</b> : SG en analyse univariée des lymphomes B intermédiaires en fonction de l'IPI.....	52
<b>Figure 21</b> : SG en analyse univariée des lymphomes B intermédiaires en fonction de l'envahissement médullaire.....	53
<b>Figure 22</b> : SG en analyse univariée des lymphomes B intermédiaires en fonction de l'âge.....	53
<b>Figure 23</b> : Survie globale des lymphomes intermédiaires en fonction du type de traitement reçu.....	55
<b>Figure 24</b> : Algorithme diagnostique proposé pour les lymphomes B avec des caractéristiques intermédiaires entre le LB et le LBDGC.....	58
<b>Figure 25</b> : Algorithme immunohistochimique pour les LB et les LBDGC basé sur l'expression de CSE1L, de STAT3 et sur la translocation de <i>C-MYC</i> .....	68

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Stades d'extension selon la classification d' <i>Ann Arbor</i> .....	8
<b>Tableau 2</b> : Synthèse des travaux publiés sur l'effet de l'expression des protéines Bcl-2, P53, Bcl-6, CD10, MUM1, FOXP1, Cycline D2 et LMO2 sur la survie des LBDGC.....	11
<b>Tableau 3</b> : Anomalies cytogénétiques décrites dans les LBDGC de profil GC et non-GC.....	12
<b>Tableau 4</b> : Différence de sensibilité et de spécificité des différents algorithmes immunohistochimiques.....	13
<b>Tableau 5</b> : Classification de Murphy.....	21
<b>Tableau 6</b> : Résumé des caractéristiques anatomopathologiques et cytogénétiques des LBDGC, des LB et des lymphomes intermédiaires. Prise en charge thérapeutique et questions en suspens.....	31
<b>Tableau 7</b> : Anticorps utilisés en IHC.....	35
<b>Tableau 8</b> : Comparaison des caractéristiques cliniques et biologiques des LBDGC et des lymphomes intermédiaires.....	39
<b>Tableau 9</b> : Comparaison des caractéristiques immunophénotypiques des LBDGC et des lymphomes intermédiaires.....	40
<b>Tableau 10</b> : Description des anomalies cytogénétiques en FISH de la cohorte étudiée de lymphomes B intermédiaires.....	41
<b>Tableau 11</b> : Comparaison des caractéristiques cliniques, biologiques et immunohistochimiques des lymphomes intermédiaires avec et sans translocation <i>C-MYC</i> .....	42
<b>Tableau 12</b> : Détail des protocoles de chimiothérapies intensives administrés aux patients.....	43
<b>Tableau 13</b> : Comparaison des caractéristiques cliniques, biologiques et immunophénotypiques des patients traités par une chimiothérapie standard ou intensive.....	44
<b>Tableau 14</b> : Réponse à la chimiothérapie dans les lymphomes intermédiaires et les LBDGC.....	45
<b>Tableau 15</b> : Réponse aux différents schémas de chimiothérapie.....	45
<b>Tableau 16</b> : SSP des lymphomes intermédiaires en fonction des caractéristiques cliniques et biologiques.....	47
<b>Tableau 17</b> : SSP des lymphomes intermédiaires en fonction des caractéristiques immunohistochimiques.....	48
<b>Tableau 18</b> : SG des lymphomes intermédiaires en fonction des caractéristiques cliniques et biologiques.....	52
<b>Tableau 19</b> : SG des lymphomes intermédiaires en fonction des caractéristiques immunohistochimiques.....	54
<b>Tableau 20</b> : Analyse multivariée des facteurs pronostiques de SG et de SSP.....	55
<b>Tableau 21</b> : Caractéristiques cliniques des lymphomes DH, données de la littérature.....	60
<b>Tableau 22</b> : Données de survie des LBDGC présentant une translocation de <i>C-MYC</i> , données de la littérature.....	62
<b>Tableau 23</b> : Survie des patients arborant une double translocation, données de la littérature, comparaison avec la survie des patients présentant une translocation simple <i>C-MYC</i> .....	64

## INTRODUCTION

Les lymphomes agressifs sont issus de la prolifération clonale de cellules lymphoïdes B. Ils comportent plusieurs entités dont la plus fréquente est le lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC), mais aussi le lymphome de Burkitt (LB) et le lymphome lymphoblastique. La classification OMS (Organisation Mondiale de la Santé) propose d'individualiser ces entités, ainsi que leurs formes variantes, en prenant en compte leurs caractéristiques diagnostiques et pronostiques. Nous nous intéresserons au cours de cette introduction, aux caractéristiques diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques des LBDGC, des LB, et des entités récemment identifiées: les LBDGC avec réarrangement du gène *C-MYC* et les formes frontières entre le LB et le LBDGC.

### 1) Lymphomes agressifs

#### a) Lymphome B diffus à grandes cellules

##### i) Définition, épidémiologie, présentation clinique

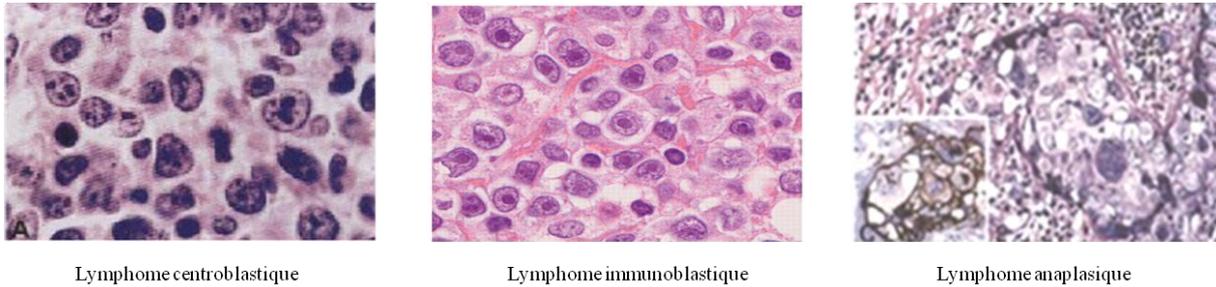
Les LBDGC NOS (*Not Otherwise Specified*) sont les plus fréquents des lymphomes B agressifs et constituent 25 à 30 % des lymphomes non hodgkiniens dans les pays occidentaux.<sup>1</sup> L'âge médian au diagnostic est de 70 ans bien qu'il touche également les enfants et les jeunes adultes.<sup>1</sup> Les facteurs étiologiques sont encore peu connus, ils surviennent souvent « *de novo* » mais peuvent également être la conséquence de la transformation d'une hémopathie lymphoïde de bas grade (leucémie lymphoïde chronique, lymphome folliculaire). Les patients présentent souvent des signes généraux et une masse tumorale ganglionnaire ou extra-nodale (40% des cas) parfois responsable d'une symptomatologie en rapport avec sa localisation. La classification d'*Ann Arbor* permet d'évaluer l'extension de ces lymphomes afin de les répartir en quatre stades (Tableau 1).

Stade I	Atteinte d'une seule aire ganglionnaire. IE : atteinte localisée d'un seul territoire extra-ganglionnaire.
Stade II	Atteinte de deux ou plusieurs aires ganglionnaires du même côté du diaphragme. IIE : atteinte extra-ganglionnaire unique avec une ou plusieurs aires ganglionnaires du même côté du diaphragme.
Stade III	Atteinte ganglionnaire des deux côtés du diaphragme. IIIS : avec atteinte splénique. IIIE : avec atteinte extra-ganglionnaire localisée.
Stade IV	Atteinte viscérale (foie, poumon, moelle, os) avec au moins une atteinte ganglionnaire, ou atteinte médullaire.

**A** : absence de symptôme B, **B** : présence de symptômes B (amaigrissement inexplicable de plus de 10 % du poids du corps en moins de 6 mois ou une fièvre inexplicable >38°C de plus de 8 jours ou des sueurs nocturnes profuses).

**Tableau 1:** Stades d'extension selon la classification d'*Ann Arbor*

Sur le plan morphologique, ils sont caractérisés par 3 sous-types: centroblastique (le plus fréquent), immunoblastique et anaplasique (Figure 1).<sup>1</sup> L'immunophénotypage retrouve communément les marqueurs B comme le CD19, le CD20, le CD22, le CD79a mais aussi le CD10 (30 à 60%), Bcl-6 (*B-cell lymphoma 6 protein*) (60 à 90%) et MUM1 (*Multiple Myeloma oncogen 1*) (35 à 65%).



**Figure 1:** Coupes anatomopathologiques des 3 sous types de LBDGC<sup>1</sup>

L'altération génétique la plus fréquemment décrite est la translocation du gène *BCL6* (30% des cas), suivi de la translocation du gène *BCL2* (*B-cell lymphoma protein 2*) (caractéristique des lymphomes folliculaires) dans 20 à 30% des tumeurs et de la translocation du gène *C-MYC* dans 10% des cas (avec un gène d'immunoglobuline (Ig) comme partenaire dans 60% des cas).<sup>2</sup>

ii) Facteurs pronostiques

(a) Cliniques

La survie globale des LBDGC à l'ère du Rituximab est d'environ 80% à 5 ans.<sup>3</sup> L'Index International Pronostic (IPI) est l'un des marqueurs pronostiques cliniques les plus puissants<sup>4</sup> et permet de répartir les patients en différents sous-groupes (risque : faible, intermédiaire faible, intermédiaire haut et haut) à partir des facteurs suivants : le taux de LDH (lactate déshydrogénase), l'âge, le stade d'*Ann Arbor*, le *Performans Status* (PS) et le nombre de sites extra-nodaux atteints. Cependant, parmi chacun de ces sous-groupes, des différences considérables en termes de survie sont constatées suggérant qu'il existe d'autres marqueurs pronostiques non pris en compte par les critères de l'IPI.

### (b) Cytogénétiques

En cytogénétique, l'impact pronostique des translocations impliquant les oncogènes *C-MYC*, *BCL2* et *BCL6* a été rapporté dans plusieurs études et bien que le rôle des translocations de *BCL2* et de *BCL6* reste encore discuté<sup>5-11</sup>, la translocation du gène *C-MYC* est de manière consensuelle associée à un pronostic défavorable.<sup>12-15</sup>

Ces tumeurs arborant une translocation du gène *C-MYC* peuvent également avoir une translocation des gènes *BCL2* ou *BCL6* et sont alors nommées « *double-hit* » (DH) ou des trois à la fois (« *triple-hit* »). Ce sont des lymphomes très agressifs.<sup>16</sup> Ils auraient un pronostic encore plus défavorable cependant peu d'études ont comparé la survie des patients présentant une double translocation par rapport à ceux porteurs d'une simple translocation. Une équipe française s'est récemment intéressée à l'impact de ces différentes anomalies cytogénétiques sur la survie de patients inclus dans des protocoles du GELA (Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte).<sup>17</sup> Une analyse en FISH (*Fluorescent In Situ Hybridization*) était réalisée pour les translocations des gènes *C-MYC*, *BCL2* et *BCL6* sur les tumeurs de 576 patients traités par une chimiothérapie comprenant des anthracyclines. Parmi ces tumeurs, 53 avaient une translocation de *C-MYC* dont 32 DH. La présence d'une translocation de *C-MYC* était associée à une survie globale à 5 ans de 57,7% contre 73,7% pour les patients sans translocation ( $p=0,001$ ). En revanche cette différence n'était pas présente dans le sous-groupe des patients arborant une tumeur DH.

### (c) Immunohistochimiques

Plusieurs marqueurs immunohistochimiques ont été rapportés comme ayant un impact pronostique indépendant de l'IPI. L'expression protéique de Bcl-2,<sup>18-20</sup> de CD5, de FOXP1 (*Forkhead box protein P1*) ou encore de P53 serait associée à un pronostic défavorable alors que l'expression protéique de Bcl-6, CD10 ou encore de LMO2 (*LIM domain only 2*) à une évolution plus favorable de la maladie. Cependant les résultats obtenus dans les différentes études sont souvent contradictoires et leur interprétation est actuellement controversée, en particulier depuis l'arrivée du Rituximab (Tableau 2).

Expression protéique	Impact favorable sur la survie	Pas d'impact sur la survie	Impact défavorable sur la survie
<b>Bcl-2</b>		Piris et al, Br J Cancer, 1994 <sup>21</sup> Wilson et al, Blood 1997 <sup>22</sup> Hill et al, Blood 1996 <sup>11</sup> Tang et al, JCO 1994 <sup>10</sup> Kramer et al, JCO 1996 <sup>23</sup> Hans et al, Blood 2004 <sup>24</sup> Winter et al, Blood 2006 (R) <sup>25</sup> Mounier et al, Blood 2003 (R) <sup>26</sup>	Hermine et al, Blood 1996 <sup>27</sup> Kramer et al, Blood 1998 <sup>9</sup> Gascoyne et al, Blood 1997 <sup>7</sup> Barrans et al, Blood 2002 <sup>20</sup> Iqbal et al, JCO 2006 : GROUPE ABC <sup>18</sup>  Van Imhoff et al, JCO 2006 <sup>6</sup> Barrans et al, Br J Haematol 2002 <sup>28</sup>
<b>P53</b>		Kramer et al, JCO 1996 <sup>23</sup> Barrans et al, Blood 2002 <sup>20</sup>	Koduru et al, Blood 1997 <sup>29</sup> Piris et al, Br J Cancer 1994 <sup>21</sup>
<b>Bcl-6</b>	Zhang et al, Pathol Int 1999 <sup>30</sup> Takeshita et al, Am J Surg Pathol 2000 <sup>31</sup> Hans et al, Blood 2004 <sup>24</sup>	Colomo et al, Blood 2003 <sup>32</sup> Winter et al, Blood 2006 (R) <sup>25</sup> Copie-bergman et al, JCO 2009 (R) <sup>8</sup>	
<b>CD10</b>	Chang et al, Am J Clin Pathol 2002 <sup>33</sup> Takeshita et al, Am J Surg Pathol 2000 <sup>31</sup> Ohshima et al, Histopathology 2001 <sup>34</sup> Go et al, Arch Pathol Lab Med 2002 <sup>35</sup> Hans et al, Blood 2004 <sup>24</sup> Van Imhoff et al, JCO 2006 <sup>6</sup>	Colomo, Blood 2003 <sup>32</sup> Linderoth et al, Clin Cancer Res 2003 <sup>36</sup> Copie-bergman et al, JCO 2009 (R) <sup>8</sup>	
<b>MUM1</b>		Colomo, Blood 2003 <sup>32</sup> Berglund et al, Mod Pathol 2005 <sup>37</sup> Copie-bergman et al, JCO 2009 (R) <sup>8</sup>	Hans et al, Blood 2004 <sup>24</sup> Van Imhoff et al, JCO 2006 <sup>6</sup>
<b>FOXP1</b>		Hans et al, Blood 2004 <sup>24</sup> Copie-bergman et al, JCO 2009 (R) <sup>8</sup>	Hans et al, Blood 2004 <sup>24</sup> Copie-bergman et al, JCO 2009 (R) <sup>8</sup>
<b>Cycline D2</b>			Hans et al, Blood 2004 <sup>24</sup>
<b>LMO2</b>		Copie-bergman et al, JCO 2009 (R) <sup>8</sup>	Natkunam et al, JCO 2008 <sup>38</sup>

**Tableau 2:** Synthèse des travaux publiés sur l'effet de l'expression des protéines Bcl-2, P53, Bcl-6, CD10, MUM1, FOXP1, Cycline D2 et LMO2 sur la survie des LBDGC. (R= Rituximab)

(d) GC/non-GC [microarray et immunohistochimie (IHC)]

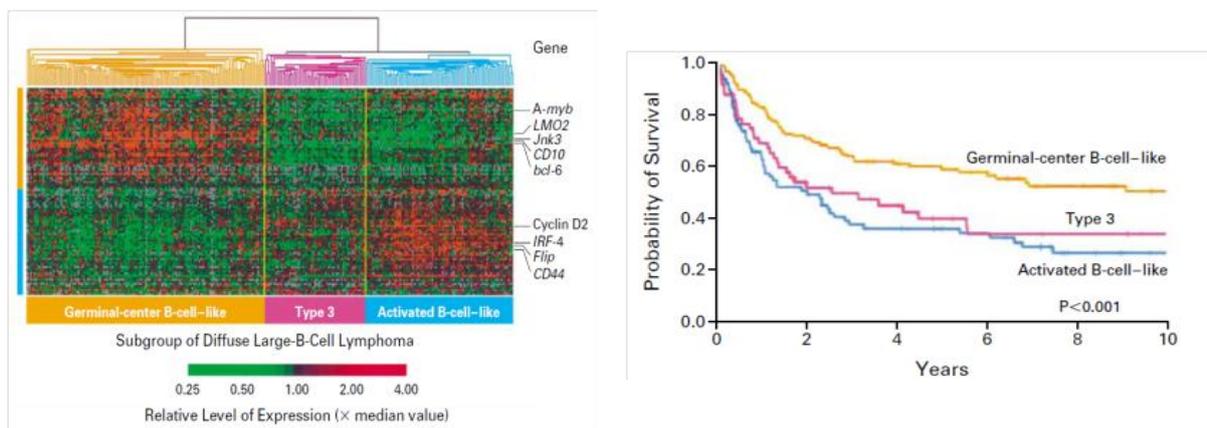
Ces dernières années, les études du profil d'expression génique ont pu identifier 3 sous-groupes parmi les LBDGC: le premier constitue le groupe GC (45-50%) provenant de cellules du centre germinatif, le deuxième nommé ABC (provenant de cellules B activées) et les types 3, correspondant à des profils non semblables aux deux premiers.<sup>39,40</sup> Les ABC et les types 3 sont généralement regroupés sous le terme « non-GC ».

La morphologie de ces sous-groupes est identique malgré la présence d'anomalies cytogénétiques différentes. En effet, la translocation de *BCL2* est plus fréquemment présente dans le sous-type GC alors que ce sont les gains chromosomiques de 3q, de 18q21, les pertes chromosomiques de 6q21 et les translocations du gène *BCL6* qui sont fréquents dans le sous-type non-GC (Tableau 3).<sup>41</sup>

	Sous type GC	Sous type non-GC
<b>Anomalies cytogénétiques</b>	Gains 1q, 2p, 7q, 12q12	Gains 3q, 18q21-q22, 19q Pertes 6q21-q22, 9p21
<b>Translocations de gène</b>	<i>BCL2</i>	<i>BCL6</i>

**Tableau 3:** Anomalies cytogénétiques décrites dans les LBDGC de profil GC et non-GC

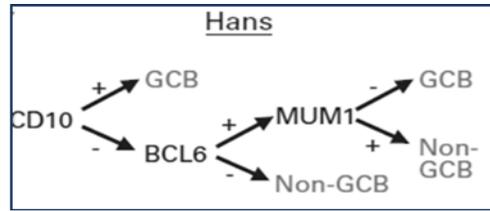
Dans l'étude de Staudt *et al*, 240 échantillons de lymphome étaient analysés en *microarray* grâce à une puce appelée « *Lymphochip* » sélectionnant les gènes préférentiellement exprimés dans les cellules lymphoïdes et les gènes connus pour leur rôle dans l'oncogenèse. Les patients avaient tous reçu une chimiothérapie à base d'anthracyclines de type CHOP. La recherche du profil d'expression génique corrélé à la survie a ainsi pu mettre en évidence le profil GC comme un facteur de bon pronostic.<sup>40,42</sup> La survie globale était significativement différente entre les sous-groupes : les 115 patients avec un profil GC avaient une survie globale à 5 ans de 60% contre 39% pour les 73 patients arborant un profil non-GC (Figure 2). Cependant, cette technique n'est pas encore réalisable sur des tissus fixés au formol, inclus dans la paraffine mais seulement sur des tissus frais congelés et son application en pratique courante est encore très limitée et n'est pour l'instant pas décisionnelle.



**Figure 2:** Profil d'expression génique des LBDGC et différences de survie des sous-groupes.<sup>40</sup>

Du fait de l'impact de la classification GC/non-GC sur le pronostic, plusieurs profils immunohistochimiques ont été proposés comme prédicteurs du profil génétique. Bien que leurs correspondances avec le profil d'expression génique ne soient pas toujours exactes, une corrélation pronostique se dessine au même titre que l'expression génique.<sup>24,38,43-45</sup> L'algorithme de Hans est le

plus fréquemment utilisé et propose de classer les tumeurs en fonction de l'expression protéique de Bcl-6, CD10 et MUM1 (Figure 3).



**Figure 3** : Algorithme de Hans<sup>24</sup>

Ce panel a été étendu dans des études plus récentes à l'expression d'autres protéines: FOXP1, Bcl-2 et LMO2 (Tableau 4). Cependant ces marqueurs ne sont pas encore utilisés en pratique courante du fait de problèmes de reproductibilité et d'interprétation<sup>46</sup> et les résultats de ces études sont encore très controversés.<sup>47-49</sup>

Algorithme	Expression protéique	Nombre cas	Concordance avec profil d'expression génique (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	EFS (HR)	OS (HR)
<b>Choi</b> <sup>44</sup>	GCET1 MUM1 CD10 Bcl-6 FOXP1	GC= 83 ABC= 86	87	85	89	2,5	2,4
<b>Hans</b> <sup>24</sup>	CD10 Bcl-6 MUM1	GC= 79 ABC= 90	86	82	90	2,5	2,2
<b>Muris</b> <sup>45</sup>	Bcl-2 CD10 MUM1	GC= 122 ABC= 45	77	99	54	3,4	3,2
<b>Nyman</b> <sup>43</sup>	MUM1 FOXP1	GC= 62 ABC= 108	81	67	95	1,6	1,7
<b>Natkunam</b> <sup>38</sup>	LMO2	GC= 84 ABC= 86	74	74	74	2,2	1,9
<b>Tally</b> <sup>46</sup>	CD10,GCET MUM1,FOXP1	GC= 76 ABC= 94	93	86	99	2,5	2,2

**Tableau 4** : Différence de sensibilité et de spécificité des différents algorithmes immunohistochimiques (Selon l'étude de Meyer *et al*, sur 262 cas traités par CHOP ou R-CHOP)<sup>46</sup>

iii) Lymphomagénèse du LBDGC

Les translocations chromosomiques réciproques impliquant un des trois loci des gènes d'Ig et un proto-oncogène sont caractéristiques de nombreux types de lymphomes B.<sup>50</sup> Le résultat d'une translocation chromosomique est la dérégulation transcriptionnelle de gènes qui régulent le développement du lymphocyte B dans les centres germinatifs ou l'expression ectopique de gènes normalement éteints à un stade mature du développement de ce lymphocyte B.

Dans le LBDGC, les principaux gènes présentant une translocation avec un gène de l'Ig sont : *BCL-6*, *BCL-2* et *C-MYC*. Cependant le processus d'hypermutation somatique aberrante contribue à la lymphomagénèse en ciblant de nombreux autres oncogènes (Figure 4).

Des mutations inactivatrices de gènes tels que *CD95* (code pour le récepteur Fas, qui induit l'apoptose cellulaire par sa ligation)<sup>51</sup>, *ATM* (*Ataxia Telangiectasia Mutated*) qui initie la réparation de l'ADN (Acide désoxyribonucléique)<sup>52</sup>, ou encore *P53* (20% des cas, gène suppresseur de tumeur qui maintient la stabilité du génome et contrôle le cycle cellulaire) sont également impliquées.<sup>53-55</sup>

L'association de l'activation de proto-oncogènes (prolifération cellulaire) et de gènes anti-apoptotiques (survie cellulaire) est essentielle dans la lymphomagénèse. Ses mécanismes sont cependant multiples et varient certainement selon le sous-type de LBDGC considéré.

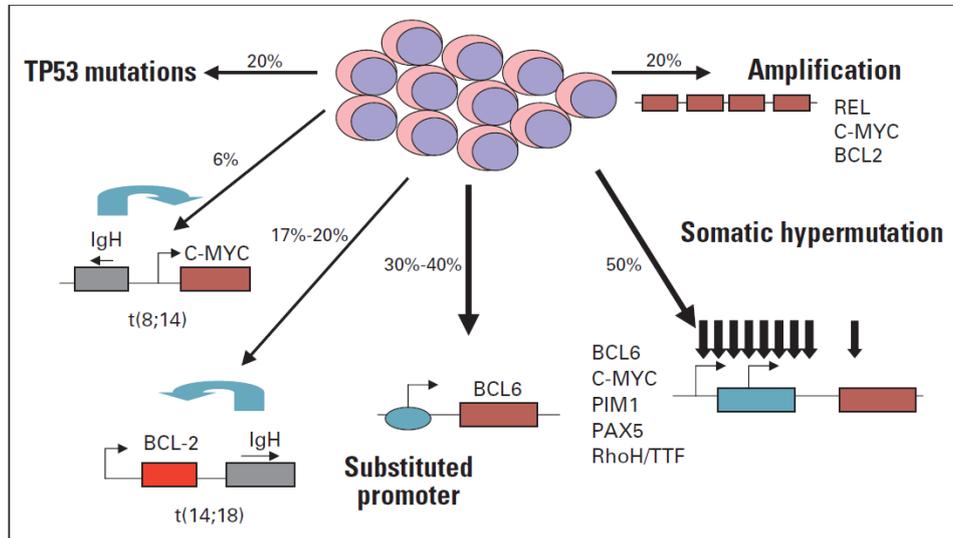
En effet les lymphomes GC présentent :

- des translocations du gène *BCL2* (gène anti-apoptotique) qui, sous l'influence du promoteur des Ig, est surexprimé.
- des translocations ou des mutations du gène *BCL-6*<sup>56</sup> (inhibe la différenciation cellulaire, l'arrêt du cycle cellulaire et la réparation de l'ADN).
- des amplifications de *REL* (proto-oncogène permettant la prolifération et la survie cellulaire par la voie NF-kB : *Nuclear factor kappa B*)<sup>57</sup> et des altérations de *PTEN* (*Phosphatase and tensin homolog*).<sup>58</sup>

Dans les sous-types ABC, les gènes exprimés ne sont pas présents dans les lymphocytes normaux du centre germinatif mais dans les lymphocytes B périphériques activés, il s'agit des gènes *CCND2* (cycline D2), *CD44* ou encore *IRF4* (MUM1).

La voie NF-kB est constitutivement activée.<sup>59</sup> Suite à sa liaison avec l'antigène, le BCR (récepteur des cellules B) active une cascade de signaux intra-cellulaires. Ces signaux sont propagés par les kinases de la famille Src (Syk et Lyn) puis par la protéine Btk (*Bruton's Tyrosine Kinase*) et activent la kinase IκB. L'activation de cette kinase permet à NF-kB d'entrer dans le noyau, de s'activer, de surexprimer

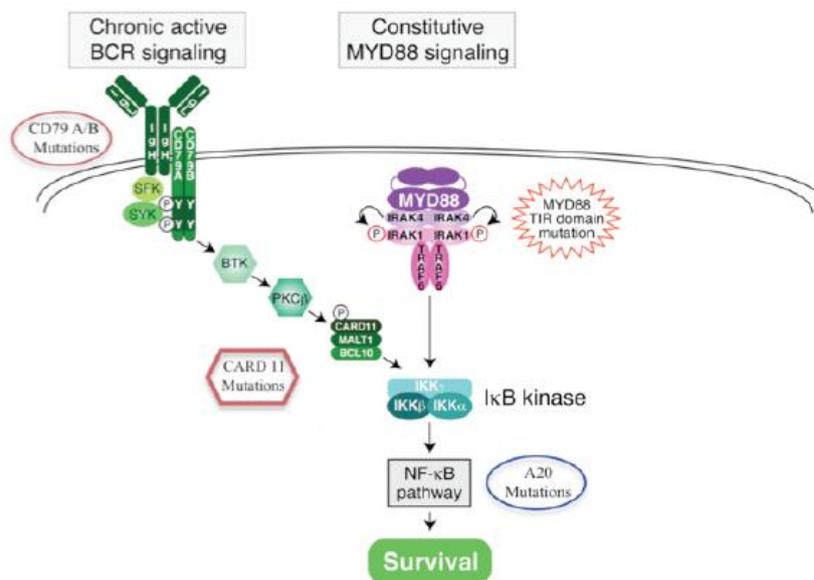
ses gènes cibles anti-apoptotiques (*BCL-XL*, *cIAP1*, *cIAP2*, *cFLIP*) et de favoriser la prolifération et la survie cellulaire en induisant la production de cytokines telles qu'IL-2, IL-6 ou CD40L.



**Figure 4:** Anomalies génétiques responsables de la lymphomagenèse du LBDGC.<sup>53</sup>

Plusieurs mécanismes sont responsables de l'activation de NF-Kb :

- Une étude a montré qu'elle pouvait être liée à une activation constitutive du BCR par l'intermédiaire de mutations des sous-unités CD79a et CD79b dans environ 20%.<sup>60</sup>
- Des mutations inactivatrices et des délétions du gène *TNFAIP3* codant pour la protéine A20 (inhibe la voie NF-kB) ont été décrites.<sup>61</sup>
- A l'aide d'un panel de shRNA, une équipe a montré que les protéines CARD11 (*Caspase recruitment comain-containing protein 11*),<sup>62</sup> BCL10 (*B-Cell lymphoma protein 10*) et MALT 1 avaient un rôle essentiel dans la survie de lignées cellulaires ABC.<sup>63</sup> Le séquençage du gène codant pour la protéine CARD11 a montré des mutations dans 10% des lymphomes ABC.<sup>62</sup>
- Enfin, des mutations de MYD88 (*Myeloid differentiation primary response gene 88*),<sup>64</sup> protéine transductrice du signal PI3K/Akt/mTOR provenant des TLR (*Toll Like receptor*), ont également été constatées dans 30 à 40% des cas avec pour conséquence une activation du signal favorisant la survie cellulaire (Figure 5).



**Figure 5:** Signal BCR et mutations (Education program for the annual congress of the European Hematology Association, Wilson W)

#### iv) Traitement

La prise en charge des patients atteints de LBDGC se différencie selon leur présentation clinique (localisée ou étendue) et leur statut thérapeutique (*de novo* ou rechute).

L'association du Rituximab (Anticorps anti-CD20) à la chimiothérapie depuis les années 2000 a permis d'améliorer considérablement la survie globale et la survie sans progression des patients quelque soit leur âge ou leur stade (SG à 3 ans : 93% versus 84%,  $p=0,001$ ).<sup>65-67</sup>

A l'heure actuelle, le traitement de référence pour les stades localisés sans facteur pronostique péjoratif (*Performans status* > 2, LDH > N ou forte masse tumorale) est une polychimiothérapie de type CHOP associée à du Rituximab pour un total de 3 à 4 cycles avec ou sans radiothérapie. Une polychimiothérapie plus intensive de type R-ACVBP peut également être proposée et donne un bénéfice de survie (SG à 3 ans : 92% versus 84%,  $p=0,007$ ) au prix d'une toxicité hématologique plus importante.<sup>68</sup> L'étude prospective du GOELAMS 02-03 (Groupe Ouest-Est des Leucémies Aigues et autres Maladie du Sang) est en cours et évalue l'intérêt de la radiothérapie chez des patients de stade localisé en rémission complète après 4 ou 6 R-CHOP tous les 14 jours en fonction de l'IPI (0 ou 1).

Le traitement de référence dans les stades avancés se distingue en fonction de l'âge. Chez les sujets jeunes (moins de 60-65 ans) et avant l'ère du Rituximab, il avait été démontré un avantage en terme de survie globale pour les patients avec un IPI 2-3 ayant reçu une intensification thérapeutique suivie d'une autogreffe par rapport à un traitement de type CHOP (SG à 5 ans : 74% versus 47%,  $p<$

0,001).<sup>69</sup> Depuis l'arrivée du Rituximab, l'intérêt de l'intensification est remis en cause. Dans l'essai 075 du GOELAMS, 4 cures de R-CHOP à 14 jours d'intervalle, suivies de 4 cures supplémentaires chez les patients présentant une TEP-scanner intermédiaire négatif, donnaient les mêmes résultats que l'autogreffe en terme de survie, avec une supériorité du nombre de patients en rémission complète métabolique à 4 cures de R-CHOP par rapport à l'induction renforcée pré-autogreffe de cette étude, y compris dans le groupe de patients avec IPI élevé. Selon ces résultats, huit cycles de R-CHOP tous les 14 jours avec une évaluation par TEP-scanner (Tomographie par émission de positons) à 4 cycles constituent actuellement le traitement de référence pour plusieurs équipes. Les patients présentant un TEP-scanner positif à 4 cycles sont en effet de moins bon pronostic (survie sans évènement à 2 ans : 82% versus 43%,  $p < 0,001$ )<sup>70</sup> et bénéficient d'un traitement de rattrapage suivi d'une intensification thérapeutique avec autogreffe de cellules souches périphériques.<sup>71</sup>

En France, chez les sujets âgés, le schéma de chimiothérapie par 8 cycles de R-CHOP tous les 21 jours est actuellement la référence.<sup>66</sup> Plusieurs tentatives visant à améliorer ce schéma ont été proposées, mais n'ont pas démontré de supériorité par rapport à ce schéma standard. En effet un essai prospectif du GELA comparant 8 R-CHOP 21 à 8 R-CHOP 14 n'a pas montré de différence de survie ou de PFS entre les deux modalités,<sup>72</sup> et cela a été confirmé très récemment par une étude américaine incluant 1080 patients.<sup>3</sup> Par ailleurs, l'essai RICOVER a montré qu'un schéma comprenant seulement 6 cycles de R-CHOP tous les 14 jours suivis de 2 cycles de Rituximab seul pourrait être une option moins toxique que 8 R-CHOP 14, sans que celui-ci ait été directement comparé à 8 R-CHOP 21 dans cette étude.<sup>73</sup>

Bien que les groupes GC et non-GC traités par anthracyclines n'aient pas le même pronostic (SG à 5 ans : 60% versus 35%,  $p < 0,001$ )<sup>40</sup>, ils sont actuellement traités de la même façon faute d'étude ayant démontré une efficacité supérieure d'un protocole de chimiothérapie par rapport à un autre dans chaque groupe.

v) Physiopathologie de la résistance aux traitements

(a) GC/ABC

Bien que le sous-type GC ait un meilleur pronostic<sup>40</sup>, près de 30% des patients ne répondent pas à la chimiothérapie. Cette résistance à la chimiothérapie peut être la conséquence de la surexpression de la protéine Bcl-6 sur la prolifération et la survie cellulaire.<sup>74</sup> En effet, les mutations et les translocations du gène *BCL-6* majorent son effet inhibiteur sur l'apoptose et favorisent ainsi la prolifération cellulaire, ce qui peut être associé à un échec du traitement.

Le sous-type ABC présente quant à lui généralement un mauvais pronostic.<sup>40</sup> Il est caractérisé par une activation constitutive de la voie NF-kB ayant pour conséquence la prolifération, la survie des cellules tumorales et donc une résistance à la chimiothérapie.

(b) C-MYC

Peu de données sont disponibles concernant la résistance à la chimiothérapie des patients présentant une simple translocation de *C-MYC* dans les LB. En revanche, la synergie biologique des doubles translocations *C-MYC-BCL2* pourrait expliquer leur chimiorésistance. En effet, le gène *BCL2* est un anti-apoptotique, et *C-MYC* dirige les cellules vers la prolifération.<sup>75</sup> Dans un modèle murin, l'activation constitutive du gène *BCL2* protège les cellules tumorales en prolifération de l'apoptose.<sup>76</sup>

(c) Perspectives : identification de molécules sensibilisantes

La protéine Bcl-6 est une cible thérapeutique importante dans les LBDGC GC. *In vitro*, les inhibiteurs de topoisomérase de type II peuvent réprimer l'expression de Bcl-6 par l'intermédiaire d'une dégradation provoquée par l'ubiquitine.<sup>77</sup> Chez les patients, l'ajout d'etoposide au CHOP permet d'obtenir une meilleure survie sans progression chez les sujets jeunes (< 60 ans), où la fréquence du sous-type GC est plus élevée.<sup>78,79</sup> Le schéma DA-EPOCH-(R) a également prouvé son efficacité dans plusieurs études récentes avec une survie sans progression à 5 ans de 100 % pour les LBDGC GC contre 67% dans les ABC.<sup>80,81</sup> Il s'agit d'un schéma de chimiothérapie infusional permettant une exposition supérieure aux drogues en termes d'AUC (aire sous la courbe) tout en recherchant la dose maximale tolérée grâce à une augmentation progressive.

L'inhibition de la voie NF-kB paraît être une approche intéressante dans les LBDGC ABC. Le bortezomib, inhibiteur du protéasome, bloque la dégradation d'IkB phosphorylé et par conséquent inhibe l'activité NF-kB *in vitro*. Ainsi, le bortezomib a été associé à une chimiothérapie standard de type DA-EPOCH chez des patients en rechute ou réfractaire. Cette association a permis d'obtenir un taux de réponse (83% versus 13%, p=0,0004) et une survie globale significativement plus élevée (10,8 mois versus 3,4 mois, p=0,0026) dans les sous-types ABC.<sup>82</sup> Une étude randomisée est en cours chez des patients présentant un LBDGC ABC traités en première ligne par R-CHOP +/- bortezomib.

Une autre voie thérapeutique intéressante dans les LBDGC ABC est l'inhibition de l'activation constitutive du BCR, des mutations de CARD11 ou encore de MYD88. L'ibrutinib, inhibiteur de Btk (Bruton's tyrosine kinase), a montré son efficacité dans les cellules présentant une activation du BCR.<sup>60</sup> Une étude de phase II multicentrique testant l'ibrutinib en monothérapie a confirmé ces

résultats chez 70 patients en rechute ou réfractaire avec une médiane d'âge de 64 ans. Le taux de réponse était de 41% dans les sous-types ABC contre 5% dans les sous-types GC (p= 0,007). Les auteurs ont également étudié la corrélation entre le taux de réponse et le type de mutations présentes. Il y avait 71% de réponse dans les tumeurs arborant une mutation de CD79b et 34% de réponse chez les patients non mutés. De manière intéressante, les patients présentant une mutation de MYD88 seule ou de CARD11 ne répondaient pas à ce traitement, suggérant l'importance de définir la bonne cible thérapeutique (*Wilson et al, données non publiées*). Des inhibiteurs ciblant spécifiquement ces mutations sont en cours de développement.

D'autres voies thérapeutiques sont actuellement étudiées dans les LBDGC ABC : la voie PI3K/AKT/mTOR avec les inhibiteurs de mTOR (temsirolimus, everolimus) ou de PI3K (CAL-101), et le lénalidomide, immunomodulateur, qui a un rôle dans l'inhibition de la voie NF-κB. Bcl-2 peut également être une cible intéressante dans ce sous-type ABC. En effet la surexpression de la protéine Bcl-2 est associée à une amplification de son gène ou à une activation de la voie NF-κB sans t(14 ;18) (translocation présente dans les lymphomes GC). Des inhibiteurs de Bcl-2 ciblant leur domaine BH3 (*Bcl-2 homology*) ont donc été testés en phase I et montrent des résultats prometteurs.<sup>83,84</sup>

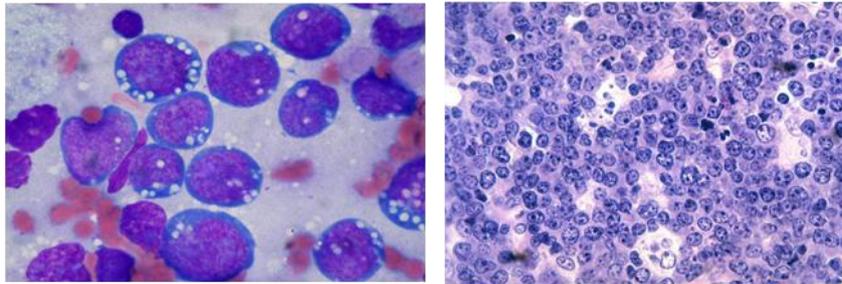
#### *b) Lymphome de Burkitt (LB)*

##### *i) Définition, épidémiologie, présentation clinique*

Décrit en 1958 par Dennis Burkitt,<sup>85</sup> le LB est un lymphome agressif issu d'une prolifération monoclonale de cellules lymphoïdes B avec un temps de doublement très élevé. Trois variants cliniques ont été décrits : une forme sporadique, une forme endémique et une forme associée à une immunodéficience liée à l'infection par le VIH. La forme endémique est observée en Afrique équatoriale, chez des enfants âgés de 4 à 7 ans (100 % EBV (Epstein Barr Virus)) qui présentent une masse mandibulaire. La forme sporadique n'a pas de répartition géographique particulière et représente seulement 1 à 2 % des lymphomes dans les pays occidentaux. Il atteint principalement les jeunes adultes avec une médiane d'âge de 30 ans et le principal symptôme est une altération de l'état général associée à une volumineuse masse « bulky » le plus souvent extra-nodale et typiquement abdominale provoquant des douleurs abdominales, des vomissements ou encore une obstruction intestinale.<sup>86</sup> Ces deux variants présentent un risque élevé d'envahissement du système nerveux central (40%) et de survenue d'un syndrome de lyse tumorale. Une atteinte médullaire y est présente dans environ 70% des cas.

Sur le plan morphologique, le LB se présente sous la forme de cellules B monotones, de taille moyenne avec un envahissement diffus et un temps de doublement très élevé (Ki-67: généralement 100%). Un aspect de « ciel étoilé » est décrit en raison des nombreux macrophages infiltrant la tumeur

contenant des corps apoptotiques (Figure 6). L'immunophénotypage révèle une forte expression de l'IgM+ ainsi que des marqueurs B : CD19, CD20, CD22, CD10 et CD79a. L'expression du CD10 et de la protéine Bcl-6 est également présente dans ce type de lymphome, ce qui évoque une origine des cellules tumorales située au niveau du centre germinatif (GC). Les cellules lymphomateuses n'expriment en revanche pas la protéine Bcl-2.



**Figure 6:** Coupes anatomopathologiques de lymphome de Burkitt.

En cytogénétique, l'altération la plus fréquente (80%) est la translocation du gène *C-MYC* t(8;14)(q24;q32) et moins communément les translocations t(8;22)(q24;q11) (5%) et t(2;8)(p12;q24) (15%). Le plus souvent, le caryotype retrouve peu d'anomalies supplémentaires. Des études d'expression du profil génique ont mis en évidence une signature spécifique pour ces lymphomes.<sup>2,87</sup>

#### ii) Facteurs pronostiques

Le LB est un lymphome très agressif mais à haut potentiel de curabilité. L'utilisation des chimiothérapies intensives actuelles permet d'obtenir des taux de réponse complète de l'ordre de 90% dans les stades localisés et de 60 à 80 % dans les stades disséminés malgré les atteintes médullaires ou du système nerveux central.<sup>86</sup> L'absence de réponse complète et les rechutes qui surviennent principalement la première année sont des facteurs de très mauvais pronostic.<sup>1</sup> Il existe peu de facteurs pronostiques cliniques, les plus reconnus étant l'envahissement médullaire ou du système nerveux central, l'âge, la présence de cellules circulantes, l'anémie, l'altération de l'état général, une masse supérieure à 10 cm et un taux de LDH élevé.<sup>88,89</sup> L'évaluation du stade peut se faire grâce à la classification d'*Ann Arbor* ou plus spécifiquement par la classification de Murphy (Tableau 5).

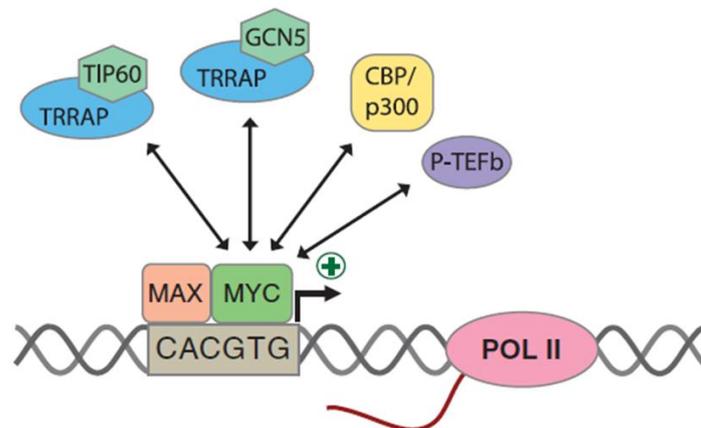
Enfin, sur le plan cytogénétique, la présence d'anomalies additionnelles et notamment la présence de délétion du bras long du chromosome 13 confèrent un mauvais pronostic.<sup>90</sup>

Stade I	Une localisation unique, ganglionnaire ou extra-ganglionnaire, en dehors de l'abdomen ou du médiastin
Stade II	Une localisation digestive unique (le plus souvent de la région iléo-caecale) sans ou avec atteinte du 1er relais ganglionnaire mésentérique, extirpable de façon segmentaire ou Deux (ou plus) localisations ganglionnaires et/ou extra-ganglionnaires du même coté du diaphragme
Stade III	Localisations ganglionnaires et/ou extra-ganglionnaires de part et d'autre du diaphragme, ou tumeur primitive intra-thoracique, ou localisation abdominale étendue, ou tumeur para-spinale ou épidurale
Stade IV	Atteinte médullaire et/ou du système nerveux central.

**Tableau 5 :** Classification de Murphy

iii) Lymphomagénèse : facteur de transcription C-Myc et EBV

C-Myc comporte un domaine N-terminal activateur, qui interagit avec le complexe de transcription de l'acide ribonucléique (ARN) polymérase, un domaine bHLH-leucine zipper qui sert à la dimérisation avec d'autres protéines, et un domaine C-terminal capable de se lier à une séquence hexamérique de l'acide désoxyribonucléique (ADN) 5'-CACGTG-3' (élément central E-box). C-Myc est un transactivateur surexprimé dans un grand nombre de cancers et exerce sa fonction en se dimérisant avec MAX puis en se fixant à une séquence d'ADN spécifique appelée « E-box » (Figure 7) à l'aide de co-facteurs.

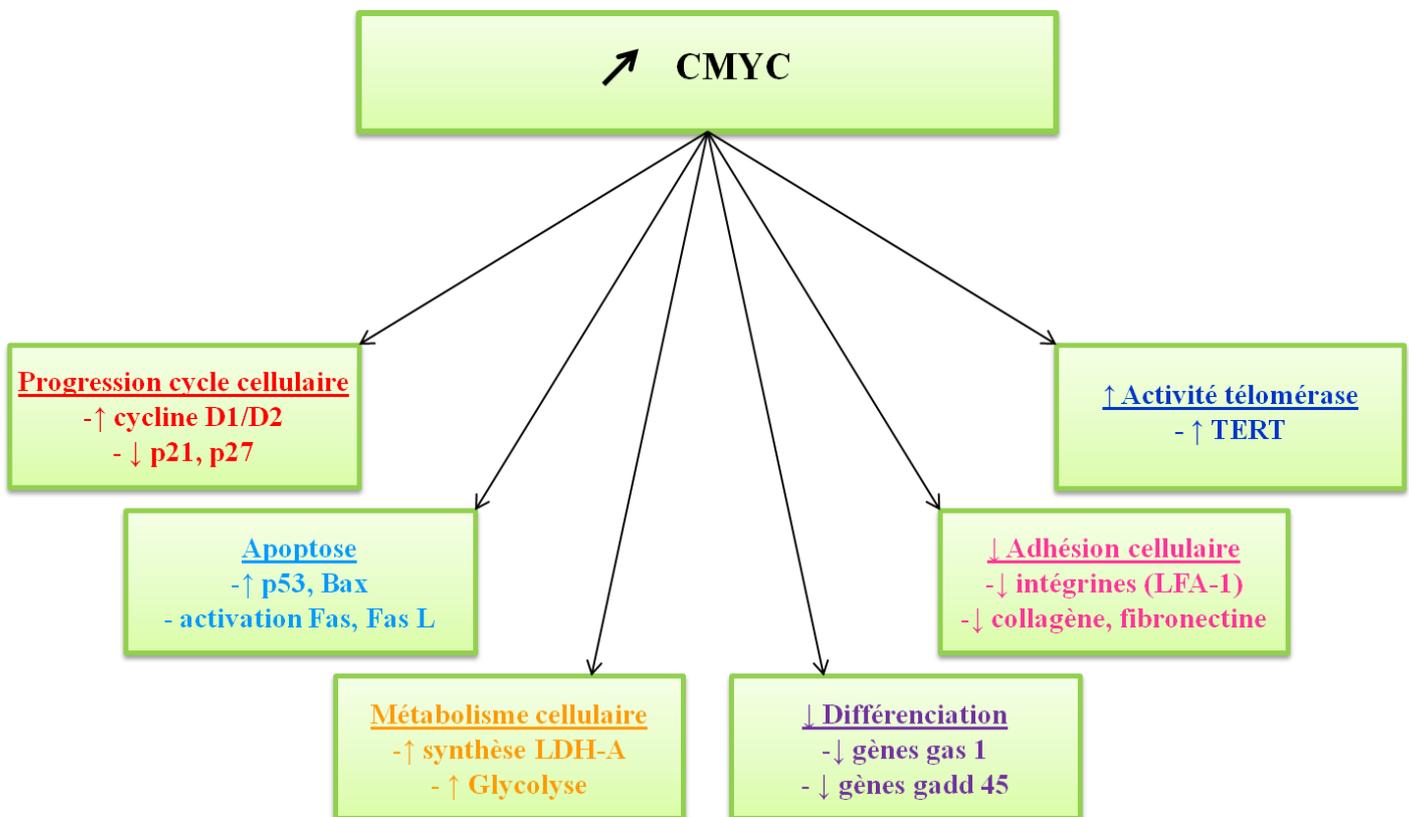


**Figure 7:** Activité transcriptionnelle de C-Myc et de ses co-facteurs.<sup>75</sup>

Des translocations sont responsables de la surexpression du gène *C-MYC* dans les LB, en juxtaposant la région codante de *C-MYC* à des régions *enhancers* des gènes des Ig qui ont une fonction

transactivatrice, et qui vont permettre la synthèse de la protéine C-Myc à un taux très élevé dans les tumeurs.

Certains gènes sont directement régulés par C-Myc.<sup>91</sup> Plusieurs sont surexprimés : *Cyclin D2* qui permet la progression du cycle cellulaire, *TRAP1* (*tumor necrosis factor receptor associated protein 1*) qui favorise l'apoptose, *LDH-A* (*Lactate dehydrogenase A gène*) qui favorise le métabolisme cellulaire ou encore *TERT* (*Telomerase reverse transcriptase*) qui par l'induction des télomérases joue un rôle dans l'immortalisation cellulaire.<sup>92,93</sup> Cette prolifération anormale est aussi associée à un blocage de différenciation cellulaire par la répression des gènes *gas1* ou *gadd45*, dans lequel C-Myc joue aussi un rôle essentiel, ou encore la répression de *LFA-1* (*Leucocyte function associated antigen-1*) jouant un rôle dans l'adhésion cellulaire et la reconnaissance cellulaire par le système immunitaire (Figure 7). D'autres signaux sont indirectement régulés par C-Myc, notamment l'augmentation de la protéine P53, via la surexpression d'ARF, qui permet le relargage de cytochrome C et l'apoptose. C-Myc est également impliqué dans la régulation de l'expression (par répression ou activation) de plusieurs mi-ARN (miR) ayant un rôle dans l'apoptose, la prolifération et le métabolisme cellulaire tels que miR 17-92, miR 26a, miR 23 a/b.<sup>75</sup>



**Figure 8 :** Conséquences directes et indirectes de la surexpression du gène *C-MYC*.

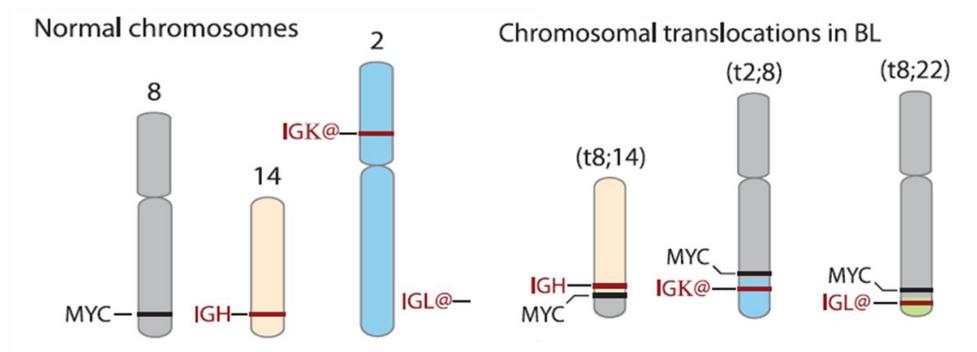
Dans les lignées lymphocytaires, la surexpression isolée d'une protéine C-Myc normale ne suffit pas à induire une tumeur maligne. D'autres partenaires cellulaires semblent nécessaires pour conférer un phénotype malin aux précurseurs cellulaires tumoraux responsables des LB. Cependant, il n'y a pas de partenaire de C-Myc identifié actuellement et systématiquement présent, qui jouerait un rôle initiateur dans la lymphomagenèse des LB.

Le rôle de l'EBV dans les LB a depuis toujours fait l'objet de nombreux travaux. La découverte de ce virus est en effet intimement liée à cette tumeur, puisque c'est grâce à une lignée de LB que le virus a été isolé.<sup>94</sup> Le rôle de l'EBV est certainement majeur dans la forme endémique de la maladie (où il est présent dans plus de 90 % des cas), mais probablement pas dans la forme sporadique des pays occidentaux ou dans la population infectée par le VIH, car il n'est retrouvé que dans 30 à 40 % des lymphomes observés dans ces deux groupes de patients. Dans tous les cas de LB où l'EBV est présent, celui-ci est sous forme épisomique et monoclonale. Le fait que le virus soit monoclonal confirme que l'infection survient donc au tout début de l'expansion de cellules du LB.<sup>95</sup> Par la suite ou de façon concomitante, vont se produire d'autres événements cellulaires responsables de l'apparition d'une tumeur maligne. Le rôle de l'EBV dans l'oncogenèse des LB n'est pas encore clairement élucidé. Une hypothèse serait que l'EBV joue un rôle précoce dans l'expansion lymphoïde B, sans rôle clair sur la persistance du clone tumoral. *In vitro*, l'infection EBV entraîne une expansion polyclonale de cellules B infectées exprimant un ensemble de protéines et notamment de LMP 1 (*Latent Membrane Protein*), 2A et 2B pouvant être responsables de transformation et surtout d'immortalisation. L'ensemble de ces facteurs pourrait ainsi favoriser l'apparition de réarrangements génomiques<sup>96</sup> impliquant *C-MYC*, et donc être responsable de l'apparition d'un LB. De plus, toujours *in vitro*, l'EBV, par l'intermédiaire direct des protéines BHRF-1, EBNA 1 et EBER ou par la répression de protéines pro-apoptotiques (BIM) par le transcrit LMP1, pourrait aussi avoir un rôle facilitateur dans la transformation induite par C-Myc, en inhibant les voies d'apoptose sans interférer sur la prolifération cellulaire.<sup>97,98</sup>

#### iv) Réarrangements de C-MYC

Les altérations cytogénétiques les plus décrites sont des translocations chromosomiques mais il existe aussi des mutations affectant la séquence régulatrice ou la région promotrice ainsi que des amplifications du gène avec augmentation du nombre de copies.

La translocation la plus fréquente et la mieux connue est celle impliquant le locus de *C-MYC* (8q24) et la chaîne lourde de l'Ig *IGH* sur le chromosome 14 (Figure 9). Moins communément, le locus de *C-MYC* peut avoir pour partenaire la chaîne légère lambda de l'Ig (22q11) ou kappa (2p12).



**Figure 9** : Translocations chromosomiques dans le LB <sup>75</sup>

Les points de cassure impliquant les loci de *C-MYC* et de l'*IGH* sont la conséquence d'une activité aberrante de l'*AICDA* (*Activation-induced cytidine deaminase*) et non de *RAG1/2* (*Recombination activation gene*).<sup>99</sup> Ces points de cassures proviennent d'une hypermutation somatique ou d'une recombinaison des classes déficiente. Cependant, la translocation *C-MYC-IG* peut être détectée dans des conditions non néoplasiques, ce qui laisse à penser que d'autres facteurs sont nécessaires pour la transformation maligne.

Les différents points de cassure sur le chromosome 14 suggèrent que les événements moléculaires observés dans les lymphomes endémiques et sporadiques surviendraient à des étapes différentes lors de la différenciation lymphoïde B. Dans la forme endémique, le type de réarrangement suggère que celui-ci se produit lors de la recombinaison VDJ (prégerminatif), alors que dans les formes sporadiques, celui-ci surviendrait lors des mutations somatiques de la région *IgH*, signant le passage par le centre germinatif des cellules lymphoïdes B. Cette observation pose la question du stade précis de différenciation cellulaire de la cellule normale dans laquelle la transformation se produit (cellule B immature ou du centre germinatif ganglionnaire).

#### v) Traitement

Le traitement du LB est une urgence thérapeutique. Les deux complications qui doivent impérativement être anticipées sont la compression d'organe vital et le syndrome de lyse tumorale.

Historiquement, les LB étaient traités avec des protocoles de chimiothérapie similaires à ceux utilisés dans les leucémies aiguës lymphoblastiques, cependant ce type de traitement s'est révélé peu efficace avec des taux de réponse complète faibles (SSP à 2 ans : 75%).<sup>86</sup> En effet, du fait d'un temps de doublement cellulaire très élevé, une reprise évolutive tumorale entre les cycles était constatée ainsi que des résistances aux traitements. Des protocoles de chimiothérapie développés en pédiatrie,

intensifs, de courte durée et maintenant des concentrations thérapeutiques élevées ont depuis montré non seulement leur faisabilité mais également une meilleure efficacité chez l'adulte.

Plusieurs protocoles de chimiothérapie ont donc été étudiés avec des taux de réponse complète variant de 60 à 100% selon les études (LMB : COPADM<sup>100</sup>, BNH-L<sup>101</sup>, CODOX-M/IVAC<sup>89</sup>, Hyper-CVAD<sup>88</sup>, ou encore CALGB 9251<sup>102</sup>) avec cependant des populations assez hétérogènes en terme d'âge et de stade de la maladie. Les grands principes communs de ces différents protocoles sont : la réalisation d'une phase de cytoréduction afin de minimiser le risque de syndrome de lyse tumorale suivie de l'administration de fortes doses d'agents alkylants (cyclophosphamide) à fréquences répétées associés à de la vincristine, à du méthotrexate (MTX) (prophylaxie méningée) et à de la cytarabine. Les schémas d'administration, les doses des différentes drogues et l'intérêt d'autres drogues comme l'ifosfamide sont encore discutés.

Plus récemment, l'intérêt du Rituximab a été soulevé dans le LB. Une première étude de phase II menée par l'équipe du MD Anderson semblait en effet suggérer l'intérêt de l'association du Rituximab avec une chimiothérapie de type Hyper-CVAD.<sup>103</sup> Les résultats de plusieurs études de phase III ont confirmé ces données avec un avantage en termes de survie sans progression mais également de survie globale avec l'introduction du Rituximab.<sup>104-106</sup> L'utilisation de cet anticorps est, de ce fait, de plus en plus courante dans le traitement du LB.

### c) Lymphomes intermédiaires

#### i) Définition double hit, notion de « Burkitt like »

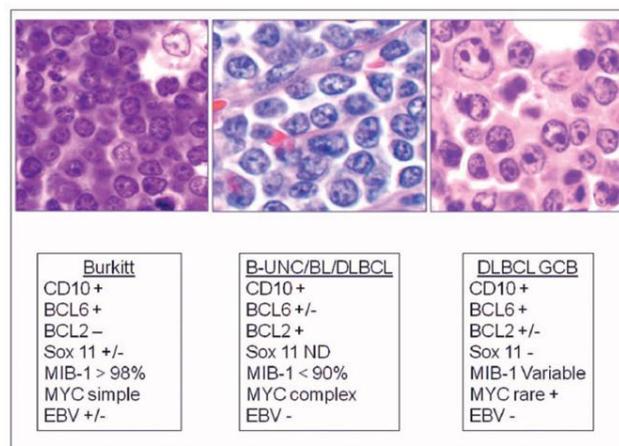
Bien que la translocation t(8;14)(q24;q32) impliquant le gène *C-MYC* ait longtemps été associée au LB, cette dernière a été identifiée dans d'autres types de lymphomes agressifs. Les LBDGC peuvent en effet arborer une translocation de *C-MYC* isolée (3 à 16% des cas).

D'autres cas arborent une double translocation « *double-hit* » (DH) (0 à 12% des cas selon les études<sup>6,8,12-15,107,108</sup>) : *C-MYC* et *BCL2* (62% des cas)<sup>109</sup> mais également *BCL6* (8%) ou les trois à la fois « *triple hit* » dans 16% des cas, avec souvent un caryotype complexe et un profil d'expression génique similaire aux LB.<sup>2,87</sup>

Ces lymphomes présentant une double translocation n'ont pas de caractéristiques morphologiques propres. Du fait de leur caractère agressif, ils font dorénavant partie d'une entité à part dans la nouvelle classification 2008 nommée « Lymphomes B non classables avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le lymphome de Burkitt ».<sup>110</sup> Cette nouvelle entité se compose de lymphomes agressifs ayant des caractéristiques morphologiques, immunophénotypiques et

cytogénétiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB. Ils présentent une translocation de *C-MYC* dans environ 30 à 50%, incidence supérieure à celle des LBDGC mais nettement inférieure à celle des LB (90-100%) et contrairement à ces derniers, ils présentent des translocations de *C-MYC* avec des gènes non-*IG* ou avec le gène de la chaîne légère de l'Ig dans 49% des cas.<sup>109</sup>

Certains de ces lymphomes étaient nommés « *Burkitt-like* » dans l'ancienne classification OMS du fait de leur caractère « *borderline* » et représentaient une difficulté diagnostique pour les anatomopathologistes et les cliniciens. Ils sont peu fréquents et affectent généralement les adultes (âge médian : 51 à 65 ans). La plupart des patients présentent un stade avancé, des LDH élevés et un IPI élevé (>3). Plus de la moitié ont des localisations multiples (souvent extra-nodales), avec un envahissement fréquent de la moelle osseuse et du système nerveux central (SNC).<sup>7,35-41</sup> Ils se composent d'une prolifération diffuse de moyennes à grandes cellules sans fibrose avec une morphologie variable. Ces cellules expriment toujours les marqueurs B soit le CD19, CD20, CD22, CD79a ainsi que l'immunoglobuline de surface dans la plupart des cas et présentent le plus souvent un phénotype GC (Figure 10).<sup>111</sup> L'expression de la protéine Bcl-2 (95%) est fréquente, contrairement au LB. Le marqueur de prolifération Ki67 est quand à lui souvent élevé mais peut varier de 50% à 100% selon les études avec une médiane de 90%. De ce fait, bien que peu spécifique, la co-expression de CD10, Bcl-6, Bcl-2 avec un Ki67 élevé peut permettre d'identifier ces cas.



**Figure 10:** Caractéristiques immunophénotypiques des différents types de lymphomes agressifs.<sup>112</sup>

La limite précise entre LBDGC, LB et ce groupe reste difficile, ce dernier étant très hétérogène, ne correspondant pas à une entité à part mais regroupant les cas ne remplissant pas les critères stricts de LBDGC ou de LB.<sup>113</sup> Des études sont encore nécessaires afin de résoudre les interrogations qui peuvent persister concernant ce type de lymphome.

## ii) Physiopathologie des doubles translocations

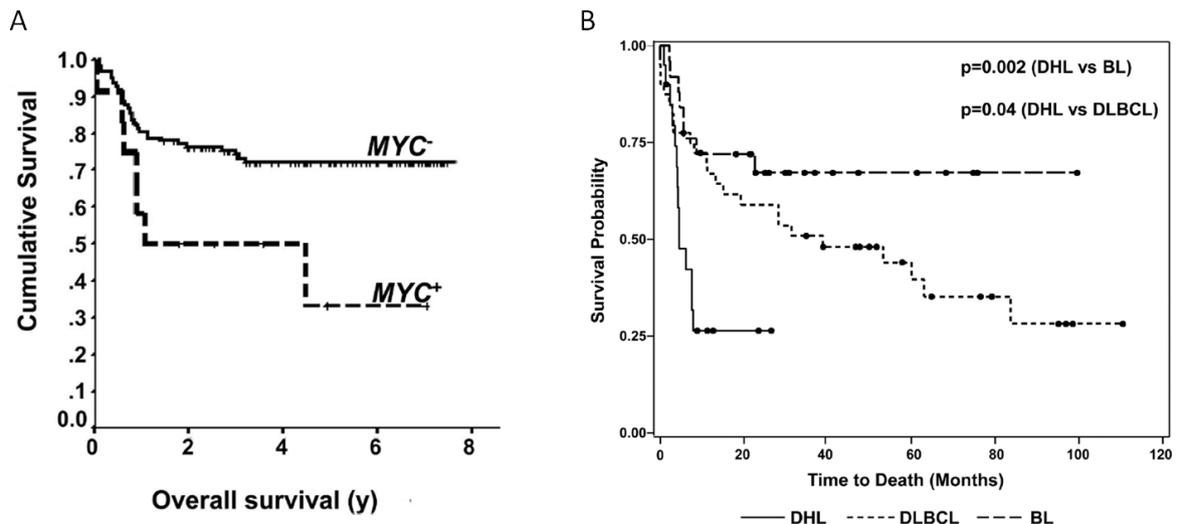
Les lymphomes DH sont définis par une translocation de *C-MYC* associée à une autre translocation, la plus fréquente (62%) étant la t(14 ;18)(q32 ;q21) impliquant *BCL2*, gène anti-apoptotique, et *IGH*. *In vitro*, la translocation de *C-MYC* est connue pour être médiée par AICDA dans les cellules B matures alors que la translocation de *BCL2* est médiée par RAG1/2 dans les cellules B immatures, la translocation de *C-MYC* serait donc un évènement secondaire. Deux arguments appuient cette théorie, tout d'abord le fait qu'environ 5% des lymphomes folliculaires vont acquérir au cours de leur évolution une translocation de *C-MYC*, mais également le fait que ces translocations « secondaires » affectent le locus de la chaîne légère des Ig et non la chaîne lourde comme dans le LB. Le mécanisme des doubles translocations avec d'autres gènes et notamment de *C-MYC* et *BCL6* est en revanche moins connu, en effet la plupart des points de cassure impliquant ces gènes sont régulés par les mêmes mécanismes.

*In vitro*, la synergie biologique des doubles translocations peut s'expliquer dans les cas des doubles translocations *C-MYC-BCL2*. En effet, on sait que *BCL2* est un gène anti-apoptotique, et que *C-MYC* dirige les cellules vers la prolifération.<sup>75</sup> Une activation constitutive de *BCL2* protège les cellules en prolifération de l'apoptose<sup>76</sup> et favorise la lymphomagenèse. Cette synergie pourrait également être favorisée par l'inhibition par Bcl-2 de certaines protéines ayant un rôle dans la réparation de l'ADN. Ainsi, lorsque les cellules arborant une translocation de *BCL2* entrent dans le centre germinatif, les anomalies chromosomiques seraient favorisées (y compris la translocation de *C-MYC*). Il serait intéressant d'étudier comment une double translocation *C-MYC-BCL2* pourrait favoriser une signature moléculaire d'instabilité génomique et ainsi expliquer la fréquence élevée de caryotype complexe dans ce type de lymphome.

Enfin de nouveaux partenaires de *C-MYC* ont été décrits dans ces lymphomes agressifs non Burkitt, il s'agit de gènes ne codant pas pour une Ig mais connus pour leur rôle dans la lymphomagenèse comme *BCL6*, *BCL11A* (*B-cell lymphoma protein 11A*), *PAX5* (*Pair Box protein 5*) et *IKAROS*.<sup>114</sup> Le mécanisme responsable des translocations de *C-MYC* avec un locus non-IG n'est actuellement pas connu<sup>114</sup> mais d'après une étude récente la présence de ces translocations conférerait un meilleur pronostic.<sup>115</sup>

## iii) Pronostic des « lymphomes B non classables avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB » et des lymphomes « double-hit »

Le pronostic de ces lymphomes est défavorable avec un caractère réfractaire à la chimiothérapie et une survie globale médiane de seulement 0,2 à 1,5 ans selon les études (Figure 11).<sup>16,114,116-123</sup>



**Figure 11:** **A** : Courbe de survie globale des LBDGC arborant une translocation de *C-MYC*<sup>15</sup>, **B** : Courbe de survie globale des lymphomes DH en comparaison aux LB et aux LBDGC<sup>16</sup>

L'une des principales difficultés diagnostiques dans ce type de lymphome est l'accessibilité aux examens cytogénétiques sur tumeurs afin de détecter les translocations présentes. De plus, *C-MYC* peut être dérégulé par une translocation avec un point de cassure en 5' de son gène, mais aussi par des amplifications ou des mutations ayant pour conséquence une surexpression du gène, de sa protéine et de ses gènes cibles. Récemment, afin de pallier ces difficultés, la recherche de la surexpression de la protéine C-Myc a été proposée par une technique d'immunohistochimie en utilisant un anticorps monoclonal ciblant sa partie N-terminal. Cette technique est faisable sur les tissus inclus en paraffine et permet d'identifier l'expression nucléaire de C-Myc pour de larges séries de lymphomes.<sup>124</sup>

Plusieurs équipes ont donc évalué la concordance des résultats obtenus avec cette technique, avec les données cytogénétiques et le pronostic de ces lymphomes.<sup>125-127</sup> Johnson *et al* a étudié la surexpression de la protéine C-Myc et de la protéine Bcl-2 ainsi que la présence d'altérations cytogénétiques sur une cohorte de 167 patients.<sup>125</sup> L'expression de C-Myc était considérée positive si 40% des cellules lymphomateuses étaient marquées par cette technique d'immunohistochimie et celle de Bcl-2 si 50% des cellules étaient positives. Ainsi 11% des cas avaient une translocation du gène *C-MYC*, 11% avaient une surexpression de l'ARNm de *C-MYC* et 33% une surexpression protéique de C-Myc. L'expression de la protéine C-Myc était associée à une diminution de la survie globale et de la survie sans progression seulement quand Bcl-2 était co-exprimée (21% des cas) avec un impact pronostique confirmé en analyse multivariée après ajustement de l'IPI. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Green *et al* qui portait sur 193 patients<sup>126</sup> traités uniformément par R-CHOP. Les seuils de positivité utilisés étaient de 40% pour C-Myc et 70% pour Bcl-2. Dans cette étude le taux de concordance entre les différents anatomopathologistes était de 94% pour la protéine C-Myc et de 91% pour Bcl-2. La

faisabilité de cette technique dans les deux études était excellente avec 96% des cas ayant pu être analysés.

Dans l'étude RICOVER, une recherche de l'expression protéique de C-Myc, Bcl-2 et Bcl-6 en IHC ainsi que du réarrangement de ces gènes en FISH était réalisée sur les échantillons de 442 patients.<sup>128</sup> Le seuil de positivité utilisé était de 40% pour la protéine C-Myc. L'expression de C-Myc, Bcl-2 et Bcl-6 était un facteur prédictif de mauvais pronostic indépendamment de l'IPI. Cependant, parmi les 26 patients porteurs d'une translocation de *C-MYC*, 8 ne présentaient pas d'expression nucléaire de la protéine. Les auteurs préconisent donc de dépister les cas en IHC et de réaliser une FISH si le taux d'expression protéique est supérieur à 20%, pour avoir une sensibilité de 92%. La deuxième étude est française et portait sur 576 patients atteints de LBDGC inclus dans plusieurs protocoles du GELA. Le seuil de positivité était de 70%. Parmi les 45 cas présentant une translocation de *C-MYC*, seulement 30 (66%) présentaient une expression nucléaire de C-Myc.<sup>17</sup>

Ces derniers résultats remettent en cause l'efficacité de l'IHC pour détecter les translocations de *C-MYC*. L'identification consensuelle d'un seuil ou d'une stratégie composite alliant l'IHC et la cytogénétique paraît essentielle pour l'utilisation de ces nouveaux bio-marqueurs dans la pratique quotidienne.

#### iv) Traitement

Peu de données sont actuellement disponibles sur les possibilités thérapeutiques pour ces lymphomes. L'intensification de la chimiothérapie avec de fortes doses de cyclophosphamide, de MTX ou de cytarabine reste encore à évaluer. Seulement quelques études rétrospectives ont évalué l'effet de l'intensification thérapeutique (ajout de MTX, protocoles des LB) sur la survie de ces patients et pour la plupart ne retrouvaient pas d'avantage de survie.<sup>111,116,118,129,130</sup> Une première étude française portait sur 16 cas de LBDGC présentant une double translocation des gènes *C-MYC* et *BCL2* ou *C-MYC* et *BCL6*. Tous les patients présentaient une maladie agressive avec des symptômes B dans 81% des cas, un PS > 2 dans 81% des cas, des LDH élevés et un stade IV. Neuf de ces patients avaient reçu une chimiothérapie de type R-CHOP et les 7 autres une chimiothérapie comportant du MTX du fait d'un envahissement du système nerveux central. Malgré ce traitement intensif, la survie sans progression et la survie globale étaient de 4 et 5 mois respectivement.<sup>118</sup> Dans une cohorte de 28 patients arborant une double translocation, un traitement de rattrapage par R-ICE ou R-DHAP avec autogreffe n'améliorait pas leur survie sans progression à 4 ans (17 versus 19%) ni leur survie globale à 4 ans (26 versus 31%).<sup>130</sup>

L'étude de Johnson *et al.* sur 54 patients retrouvait de manière identique une survie courte chez les 6 patients ayant reçu une chimiothérapie intensive par rapport aux 48 ayant reçu un traitement palliatif (3 mois vs 1 mois,  $p > 0,05$ ).<sup>116</sup>

Plus récemment, une équipe américaine a constaté des résultats contradictoires<sup>129</sup> chez 52 patients présentant un lymphome B « intermédiaire », qui recevaient soit une chimiothérapie de type R-CHOP ou une chimiothérapie plus intensive de type R-hyper-CVAD. Le statut *C-MYC* était analysé puis corrélé au pronostic et à la réponse au traitement. Cinquante huit pour cent des patients présentaient une translocation de *C-MYC*. Les caractéristiques cliniques n'étaient pas différentes selon le statut du gène *C-MYC*. La survie sans progression des patients présentant une translocation *C-MYC* et traités par une chimiothérapie de type R-CHOP était significativement moins bonne que celle des patients traités intensivement. En revanche, chez les patients sans translocation de *C-MYC*, 2 groupes étaient constatés, les patients répondeurs et les patients réfractaires à la chimiothérapie (quel que soit le type de chimiothérapie). Une autre équipe retrouvait une survie sans progression à 4 ans de 83% chez des patients présentant une translocation du gène *C-MYC* et traités par une chimiothérapie de type DA-EPOCH-R.<sup>131</sup>

Ces résultats confortent la stratégie d'intensification thérapeutique dans ce type de lymphome. En effet, malgré les résultats discordants sur le bénéfice du traitement intensif, beaucoup d'équipes françaises proposent actuellement un traitement intensif en première intention du fait du caractère clinique très agressif de ces lymphomes.

En revanche, il est important de prendre en compte les toxicités, notamment hématologiques, de ces traitements intensifs. En effet, dans la plupart des études de LB (LMB, B-NHL, CODOX-M/IVAC, Hyper-CVAD), une neutropénie de grade 3 est observée dans 81 à 100 % des cycles avec une incidence d'infections sévères entre 19 et 55 %. La proposition de ce type de traitement doit donc tenir compte de l'âge et de co-morbidités des patients.

Les enjeux importants seront donc d'identifier ces formes en IHC ou en FISH dont la gravité nécessitera un traitement différent du standard puis de mettre au point des traitements efficaces et de toxicité acceptable. Deux voies d'optimisation thérapeutique sont envisageables : l'optimisation de schémas thérapeutiques de molécules standards (ex : DA-EPOCH-R, COPADM), ou la mise au point d'associations de chimiothérapie avec de nouvelles molécules efficaces, dont certaines ont été citées précédemment.

2) Synthèse et question posée

a) Synthèse

Les LBDGC, les LB et les lymphomes intermédiaires se différencient donc par leurs caractéristiques cliniques, anatomopathologiques et cytogénétiques avec cependant quelques critères communs. Leur caractérisation est essentielle afin d'adapter leur prise en charge thérapeutique. Des questions restent cependant en suspens dans chacune de ces entités et sont résumées dans le Tableau 6.

	<b>LBDGC</b>	<b>Lymphome de Burkitt</b>	<b>Lymphome intermédiaire</b>
<b>Fréquence</b>	25 à 30%	1 à 2 %	Rares
<b>IHC</b>	CD19+, CD20+, CD22+, CD79a+, CD10+, BCL6+, MUM1+, BCL2+/-	CD19+,CD20+,CD22+, CD10+,CD79a+, CD10+, BCL6+, BCL2-, Ki67 > 95%	CD19+, CD20+, CD22+, CD79a+, BCL2+, Ki67 (50-100%), CD10+, BCL6 +/-
<b>Cytogénétique</b>	Translocation <u>BCL6</u> (30%), <u>BCL2</u> (20%), <u>C-MYC</u> (10%)	-t(8 ;14), t(8 ;22),t(2 ;8) - pas d'autres anomalies caryotypiques	- <u>DH</u> 12% <u>C-MYC-BCL2</u> : 62% <u>C-MYC- BCL6</u> 8%, <u>BCL2-BCL6</u> : 16% - <u>translocation C-MYC + gènes non-Ig</u> : 49% - <u>Caryotype complexe</u> .
<b>GC/non-GC</b>	<u>GC</u> : 45-50% <u>Non-GC</u> : 50-55%	GC	GC
<b>Translocations C-MYC</b>	10%	90- 100%	30 à 50%
<b>Principes de Traitement</b>	<u>Chimiothérapie standard</u> : type R-CHOP	<u>Intensification</u> : MTX haute doses Endoxan haute doses Cytarabine Prophylaxie neuro-méningée	- Type <u>standard</u> - Type <u>intensif</u>
<b>Questions en suspens</b>	- <u>Algorithme de Hans</u> -Traitement en fonction <u>GC-nonGC</u> - <u>TEP</u> d'évaluation - <u>Valeur pronostique de C-MYC</u> en IHC ou FISH	- Rôle <u>Rituximab</u>	- <u>Type de traitement</u>

**Tableau 6:** Résumé des caractéristiques anatomopathologiques et cytogénétiques des LBDGC, des LB et des lymphomes intermédiaires. Prise en charge thérapeutique et questions en suspens.

b) Question posée

Nous nous sommes donc posé 2 questions :

1) Quel est le pronostic de ces lymphomes « intermédiaires » par rapport aux LBDGC tout-venant ?

2) Quel est l'impact de l'utilisation des traitements intensifiés utilisés dans le LB sur la survie sans progression des patients atteints de ce type de lymphome ?

Nous avons réalisé une étude rétrospective, et étudié les cas de lymphomes B « intermédiaires », « *double-hit* », « *triple-hit* » ou encore LBDGC avec translocation de *C-MYC* du Centre Hospitalier Universitaire de Tours et de Clermont-Ferrand. Nous avons voulu tout d'abord définir leurs caractéristiques cliniques et morphologiques, puis évaluer leur prise en charge.

## PATIENTS ET METHODES

### 1) Méthodologie de l'étude

Nous avons sélectionné de manière rétrospective tous les cas pris en charge au CHU de Tours et de Clermont-Ferrand avec un diagnostic anatomopathologique de « lymphome B non classable avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB », une double translocation des gènes *C-MYC* et *BCL2* ou *C-MYC* et *BCL6*, ou une simple translocation du gène *C-MYC*. Nous avons limité la recherche à 2011 au plus tard afin d'avoir une durée de suivi suffisante.

Pour le groupe comparateur, nous avons sélectionné des cas de LBDGC diagnostiqués entre 2005 et 2006 au CHU de Tours.

La nouvelle entité nommée « lymphome B non classable avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB » est seulement décrite depuis la nouvelle classification OMS 2008, nous n'avons donc pas pu rechercher les cas par ce codage. Nous avons donc réalisé une recherche textuelle des termes « *C-MYC* », « *burkitt* », « *burkitt-like* », et « *lymphome agressif* » dans les courriers d'hospitalisation et de consultation du Pôle de Cancérologie de Tours de 2000 à 2011. Pour les LBDGC, nous avons utilisé le codage PMSI de 2005-2006 avec le terme « *Lymphome B diffus à grandes cellules* ».

### 2) Objectif principal de l'étude

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la survie sans progression des patients atteints de lymphome « intermédiaire », « *double hit* », « *triple hit* » et LBDGC *C-MYC* et de comparer cette survie à celle des LBDGC tout-venant.

### 3) Objectifs secondaires de l'étude

Les objectifs secondaires sont :

- d'évaluer la survie globale des lymphomes « intermédiaires » et de la comparer à celle des LBDGC.
- d'évaluer l'impact d'un traitement intensif sur la survie sans progression et sur la survie globale des lymphomes « intermédiaires » .
- de rechercher des marqueurs pronostiques.

#### 4) Critères d'inclusion

- Lymphomes B diffus à grandes cellules diagnostiqués entre 2005 et 2006
- Lymphomes B avec des caractéristiques anatomopathologiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB, présentant une simple translocation du gène *C-MYC* ou une double translocation en cytogénétique, diagnostiqués entre 2000 et 2011
- Tous les cas devaient avoir des renseignements cliniques et biologiques suffisants.

L'intensité de traitement était basée sur le jugement du clinicien et/ou de la RCP (Réunion de Concertation pluridisciplinaire) locale à l'aide des données cliniques et biologiques dont il disposait au moment du diagnostic.

#### 5) Critères d'exclusion

- Lymphomes B diffus à grandes cellules de localisation cérébrale primitive.
- Lymphomes B diffus à grandes cellules associés à une immunodépression.

#### 6) Aspects éthiques

Selon la législation française, dans une étude rétrospective, un consentement éclairé, l'accord d'un comité d'éthique, l'accord du CCTIRS (Comité consultatif sur le traitement de l'information en matière de recherche dans le domaine de la santé) et/ou de la CNIL (Commission nationale de l'informatique et des libertés) ne sont pas nécessaires. Les données nominatives n'ont jamais été communiquées à des tiers non impliqués dans la prise en charge des patients.

#### 7) Recueil des données cliniques

L'âge des patients au diagnostic, le stade d'*Ann-Arbor*, le taux de LDH, le *Performans Status*, le nombre de localisations extra-nodales, l'atteinte osseuse, médullaire et méningée ont été recueillis de manière rétrospective dans les dossiers médicaux et utilisés pour calculer l'Index Pronostic International (IPI).

Les traitements reçus dans cette cohorte de patients ont été divisés en 2 catégories : un traitement de type R-CHOP (14 ou 21) ou un traitement plus intensif (COPADM, R-CEEP, MTX ou R-DHAP). Nous avons également rapporté le nombre de ponctions lombaires thérapeutiques.

Nous avons évalué la réponse au traitement selon les critères de Cheson 1999<sup>133</sup> ou 2006<sup>134</sup> (en fonction de l'année du diagnostic) et rapporté leurs toxicités.

#### 8) Recueil des données anatomopathologiques et cytogénétiques

Avec la collaboration du Dr Arbion, anatomopathologiste, et du Dr Barin, cytogénéticienne au CHU de Tours, nous avons récupéré les données histologiques, immunophénotypiques et cytogénétiques disponibles pour chacun des patients. A la relecture des comptes rendus anatomopathologiques, les cas définis « lymphomes B avec des critères intermédiaires » devaient remplir les critères de l’OMS 2008 soit :

- Un aspect de ciel étoilé avec des cellules de taille intermédiaire
- Un taux de prolifération Ki67 élevé
- Un profil immunophénotypique compatible (CD20, CD10, Bcl-6 +/-, Bcl-2)
- Ou des arguments indirects : la présence en cytogénétique d’une double translocation des gènes *C-MYC-BCL2* ou *C-MYC-BCL6*, d’une translocation du gène *C-MYC* ou d’un caryotype complexe.

Il n’a pas été réalisé d’études cytogénétiques ou immunohistochimiques complémentaires sur d’éventuels prélèvements congelés.

#### 9) Immunohistochimie

L’analyse immunohistochimique a été réalisée au diagnostic sur les biopsies fixées au formol et incluses en paraffine. Les anticorps anti-CD20, anti-CD10 et anti-Bcl-2 ont été utilisés pour 81, 74 et 75 cas respectivement et les anticorps anti-Bcl-6, MUM1 et Mib-1 pour 50, 13 et 50 cas (Tableau 7). Selon l’algorithme de Hans, le profil GC ou non/GC a été défini en collaboration avec le Dr Arbion pour tous les cas dont l’IHC était disponible.

La technique d’immunohistochimie est réalisée sur tissus inclus en paraffine par un automate Benchmark XT (Roche) avec le kit de détection Ultraview<sup>TM</sup>DAB (peroxydase sans biotine, Roche). Cette technique commence par un prétraitement de type CC1 de durée variable selon l’anticorps utilisé, combinant un déparaffinage et un démasquage antigénique, puis une incubation (temps d’incubation dépendant de l’anticorps, Tableau 7) à température ambiante avec l’anticorps primaire. Après une technique de révélation, une contre coloration à l’hématoxyline est réalisée.

Anticorps	Laboratoire	Clone	Référence	dilution	prétraitement	temps incubation (min)
<b>CD10</b>	Leica Microsystem Novocastra	-	NCL-CD10- 270	1/50	CC1 standard	40
<b>CD20</b>	Dako	L26	M0755	1/400	CC1 court	20
<b>Bcl2</b>	Dako	124	M0887	1/50	CC1 long	40
<b>Bcl6</b>	Dako	PG-B6p	M7211	1/10	CC1 long	48
<b>Mib-1</b>	Dako	Mib1	M7240	1/200	CC1standard	32
<b>MUM1</b>	Dako	MUM1p	M7259	1/50	CC1 standard	32

Tableau 7: Anticorps utilisés en IHC

### 10) Analyse cytogénétique et FISH

Une analyse cytogénétique conventionnelle (caryotype standard) sur des suspensions cellulaires ganglionnaires, extra-nodales ou médullaires a été réalisée au diagnostic pour 27 cas.

La suspension cellulaire est mise en culture *in vitro* puis bloquée en métaphase à l'aide de colchicine. Elle est ensuite mise en incubation avec une solution hypotonique puis fixée et étalée. Cette préparation est colorée par une coloration au Giemsa permettant l'apparition de bandes sombres et claires alternées sur les chromosomes : le « *G-banding* ». Les résultats sont décrits selon l'ISCN (*International System for Human Cytogenetic Nomenclature*).

L'analyse en FISH pour la translocation des gènes *C-MYC* et *BCL2* a été réalisée pour 20 cas au diagnostic. Elle est réalisée sur les biopsies incluses en paraffine, sur le caryotype ou sur les appositions ganglionnaires. La translocation du gène *C-MYC* est recherchée en utilisant la sonde LSI *C-MYC* Break-Apart (Abbott), le résultat est considéré positif après l'obtention de 3 signaux nucléaires à savoir un jaune, un rouge et un vert. La translocation du gène *BCL2* est évaluée avec la sonde IGH-*BCL2* Dual Fusion (Cytocell) avec un résultat considéré positif après l'obtention d'un signal rouge, d'un vert et de 2 jaunes.

Le réarrangement du gène *BCL6* par la sonde *BCL6* Break-Apart (Cytocell) a également été recherché dans 10 cas.

### 11) Statistiques

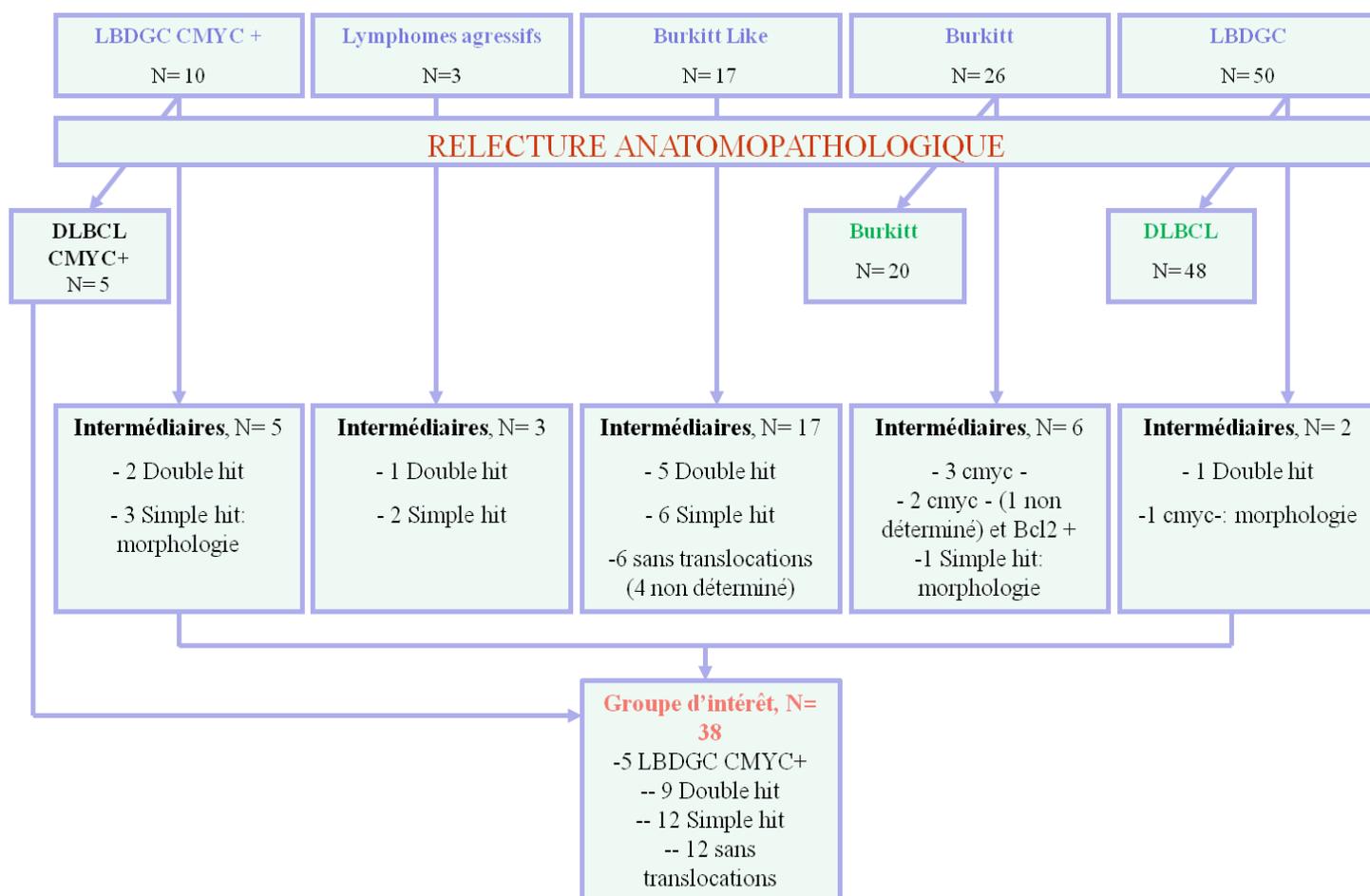
Le test exact de Fisher et le test du  $\chi^2$  ont été utilisés pour l'analyse des données nominatives et la comparaison des données cliniques, immunohistochimiques et cytogénétiques des différents groupes de patients. Les résultats sont considérés comme significatifs pour une valeur de  $p < 0,05$ .

La survie globale (SG : déterminée par la durée entre la date du diagnostic et la date du décès) et la survie sans progression (SSP : déterminée par la durée entre la date du diagnostic et la date de rechute ou de progression) ont été estimées par la méthode de Kaplan-Meier. Toutes les analyses de survie ont été réalisées en intention de traiter. Les résultats sont exprimés sous forme de médiane [valeur minimale; maximale]. L'analyse statistique comparative des résultats a été faite par le test de Log Rank. Les variables associées en analyse univariée à la survie globale et à la survie sans progression avec un  $p < 0,10$  ont été étudiées dans le modèle multivarié de Cox afin d'identifier des facteurs pronostiques. La significativité en analyse univariée et multivariée est définie par un  $p < 0,05$ . Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics 20.

## RESULTATS

### 1) Caractéristiques des groupes a) Nombre de patients identifiés

Les données cliniques, biologiques et anatomopathologiques de 86 patients ont été recueillies dans cette étude. Initialement, 17 cas étaient considérées « *Burkitt-like* », 26 avaient un diagnostic de LB et 63 un diagnostic de LBDGC (3 étaient décrits comme lymphome agressif et 10 présentaient une translocation du gène *C-MYC*). Suite à la relecture des descriptions histologiques sur les comptes-rendus anatomopathologiques avec le Dr Arbion, six cas avec un diagnostic initial de LB ont été considérés « intermédiaires » du fait d'une histologie, d'un immunophénotypage discordant ou encore d'une cytogénétique complexe. Cinq LBDGC *C-MYC*+ ont été reconsidérés lymphome « intermédiaire » ainsi que deux LBDGC (un cas sur la présence d'une double translocation et l'autre sur sa morphologie) (Figure 12).



**Figure 12:** Diagramme représentant la nouvelle classification des cas de lymphomes après relecture des comptes-rendus anatomopathologiques.

Au total, 38 cas ont été sélectionnés pour faire partie du groupe « lymphome intermédiaire ». Vingt cas ont été définis comme étant des LB et 48 ont été classés dans le groupe comparateur LBDGC.

*b) Caractéristiques cliniques et biologiques des patients au diagnostic*

Les caractéristiques cliniques des patients sont détaillées dans le Tableau 8. L'âge médian des patients est de 53,5 ans [18-80] pour les lymphomes B intermédiaires et de 60 ans [32-84] pour les LBDGC. On compte 13 femmes sur 38 dans le groupe «intermédiaire», et 23 femmes sur 48 dans le groupe LBDGC (p=0,145).

Les 38 patients avec un diagnostic de lymphome B intermédiaire se présentent initialement avec une forme clinique plus agressive : le *Performans Status* est significativement plus élevé ( $PS \geq 2$ ) (39,5% contre 18,7%, p=0,03), ils sont plus fréquemment de stade III-IV (76,3% contre 56,2%, p= 0,04), la BOM et le SNC sont plus fréquemment envahis (34,2% contre 14,9%, p= 0,03 et 10,5% contre 0%, p=0,04) et le nombre de localisations extra-nodales est plus élevé ( $> 1$ ) (42,1% contre 18,7%, p=0,017). Sur le plan biologique, le taux médian de LDH est de 963UI/L [168-9186] pour le groupe intermédiaire et de 575 UI/L [429-4135] dans le groupe LBDGC (p< 0.001). En conséquence, les lymphomes B intermédiaires ont un IPI plus élevé ( $\geq 3$ ) par rapport aux LBDGC (55,3% contre 37,5%, p=0,08).

*c) Caractéristiques anatomopathologiques et immunophénotypiques des patients au diagnostic*

Les lymphomes B intermédiaires expriment plus fréquemment le CD10 (64,7% contre 39,5%, p= 0,03) et la protéine Bcl-6 (86,4% contre 42,8%, p=0,002). En revanche, il n'y a pas de différence concernant l'expression protéique de Bcl-2 (57,6% contre 61,9%, p= 0,44). Selon l'algorithme de Hans, les lymphomes « intermédiaires » présentent plus fréquemment un profil GC par rapport aux LBDGC (79,3% contre 54,8%, p=0,04). Enfin, les lymphomes intermédiaires ont un Mib-1 significativement plus élevé (Mib-1>90%), 73,1% contre 25% (p=0,001) (Tableau 9).

	LBDGC (n=48)	Lymphomes intermédiaires (n=38)	Test de Fischer
<b>Age médian (ans)</b>	60 [32-84]	53,5 [18-80]	
<b>Age &gt; 65 ans</b>	20 (41,7%)	14 (36,8%)	p= 0,41
<b>Sexe (F/M)</b>	23/25	13/25	p= 0,145
<b>PS</b>	N= 47		
<b>0</b>	22 (47%)	8 (21%)	
<b>1</b>	16 (34%)	15 (39%)	
<b>2</b>	7 (15%)	12 (31,5%)	
<b>3</b>	1 (2%)	3 (8%)	
<b>4</b>	1 (2%)	0	
<b>PS ≥ 2</b>	9 (18,7%)	15 (39,5%)	p= 0,03
<b>Stade Ann Arbor</b>			
<b>1</b>	13 (27%)	4 (10,5%)	
<b>2</b>	8 (17%)	5 (13%)	
<b>3</b>	5 (10%)	6 (16%)	
<b>4</b>	22 (46%)	23 (60,5%)	
<b>Stade ≥ 3</b>	27 (56,2%)	29 (76,3%)	p= 0,04
<b>IPI</b>			
<b>0</b>	10 (21%)	3 (8%)	
<b>1</b>	10 (21%)	4 (10,5%)	
<b>2</b>	10 (21%)	10 (26%)	
<b>3</b>	11 (23%)	11 (29%)	
<b>4</b>	6 (12,5%)	6 (16%)	
<b>5</b>	1 (2%)	4 (10,5%)	
<b>IPI ≥ 3</b>	18 (37,5%)	21 (55,3%)	p= 0,08
<b>Atteinte SNC</b>	0/45 (0%)	4 (10,5%)	p= 0,04
<b>Atteinte osseuse</b>	6/47 (12,7%)	4 (10,5%)	p= 0,51
<b>BOM envahie</b>	7/47 (14,9%)	13 (34,2%)	p= 0,03
<b>LDH médian (UI/L)</b>	575 [429-4135]	963 [168-9186]	
<b>LDH &gt; N</b>	32 (66,7%)	34 (89,5%)	p= 0,01
<b>LDH &gt; 2N</b>	13 (27,1%)	25 (65,8%)	p< 0.001
<b>Nombre de localisations extra nodales &gt; 1</b>	9 (18,7%)	16 (42,1%)	p= 0,017

**Tableau 8:** Comparaison des caractéristiques cliniques et biologiques des LBDGC et des lymphomes intermédiaires

	LBDGC (n/n')	Lymphomes intermédiaires (n/n')	Test de Fischer
<b>CD10</b>	15/38 (39,5%)	22/34 (64,7%)	p= 0,03
<b>MUM1</b>	5/5 (100%)	6/7 (85,7%)	p= 0,58
<b>Bcl-6</b>	12/28 (42,8%)	19/22 (86,4%)	p= 0,002
<b>Bcl-2</b>	26/42 (61,9%)	19/33 (57,6%)	p= 0,44
<b>Mib-1 &gt;90%</b>	6/24 (25%)	19/26 (73,1%)	p= 0,001
<b>Mib-1 &gt;95%</b>	4/24 (16,7%)	13/26 (50%)	p= 0,01
<b>Profil GC</b>	17/31 (54,8%)	23/29 (79,3%)	p= 0,04

**Tableau 9:** Comparaison des caractéristiques immunophénotypiques des LBDGC et des lymphomes intermédiaires. (n= nombre de cas positifs, n'= nombre de cas évalués)

#### *d) Caractéristiques cytogénétiques des lymphomes B intermédiaires*

Parmi les 38 lymphomes « intermédiaires », 25 présentent une translocation du gène *C-MYC*, 8 n'en ont pas et 5 n'ont pas été analysés.

Sept cas présentent une double translocation des gènes *C-MYC-BCL2*, un cas a une double translocation *C-MYC-BCL6* et un cas une double translocation *BCL2-BCL6*. Cependant, la recherche d'une translocation de *BCL2* en FISH a été réalisée chez seulement 17 patients et celle de *BCL6* chez seulement 10 patients (Tableau 10).

Un caryotype standard a été réalisé pour 27 cas. Pour 22 cas on ne constate pas d'anomalies cytogénétiques supplémentaires. Les anomalies présentes dans les 5 autres sont une trisomie du chromosome 12 (2 cas), du 7 (1 cas), une délétion de 6q (2 cas) et du 13 (1 cas) ainsi que des anomalies du 1 (1 cas) et du 11 (1 cas).

<b>Translocation génique</b>			
	<i>C-MYC</i>	<i>BCL2</i>	<i>BCL6</i>
<b>Simple-hit</b>	17	2	0
<b>Double-hit</b>	8	8	2
<i>C-MYC-BCL2</i>	7	7	0
<i>C-MYC-BCL6</i>	1	0	1
<i>BCL6-BCL2</i>	0	1	1
<b>Pas de translocation</b>	8	7	8
<b>Non déterminé</b>	5	21	28

**Tableau 10:** Description des anomalies cytogénétiques en FISH de la cohorte étudiée de lymphomes B intermédiaires

Nous n'avons constaté aucune différence en termes de présentation clinique, biologique et immunohistochimique entre les lymphomes intermédiaires présentant une translocation du gène *C-MYC* et ceux sans translocations (dont 5 non déterminés). Cependant l'expression de la protéine Bcl-2 est plus fréquente chez les patients présentant une translocation du gène *C-MYC* (73% contre 36%,  $p=0.03$ ) (Tableau 11).

De même, aucune différence n'a été constatée entre les patients arborant une double translocation par rapport à ceux présentant une simple translocation du gène *C-MYC* hormis l'âge qui est plus élevé (>65 ans) dans le sous-groupe « *double-hit* » (67% contre 23,5%,  $p=0,042$ ) (Cf Annexe 1).

	C-MYC- (n=13)	C-MYC + (n= 25)	Test de Fischer
<b>Age médian (ans)</b>	38,5 [19-72]	55,5 [21-80]	
<b>Age &gt; 65 ans</b>	5 (38,5%)	9 (36%)	p= 0,58
<b>Sexe (F/M)</b>	5/8	8/17	p= 0,48
<b>PS</b>			
<b>0</b>	5 (38,5%)	3 (12%)	
<b>1</b>	4 (31%)	11 (44%)	
<b>2</b>	4 (31%)	8 (32%)	
<b>3</b>	0	3 (12%)	
<b>4</b>	0	0	
<b>PS≥2</b>	4 (31%)	11 (44%)	p= 0,33
<b>Stade Ann Arbor</b>			
<b>1</b>	3 (23%)	1 (4%)	
<b>2</b>	2 (15%)	3 (12%)	
<b>3</b>	3 (23%)	3 (12%)	
<b>4</b>	5 (38%)	18 (72%)	
<b>Stade ≥ 3</b>	8 (61,5%)	21 (84%)	p= 0,13
<b>IPI</b>			
<b>0</b>	1 (8%)	2 (8%)	
<b>1</b>	2 (15%)	2 (8%)	
<b>2</b>	4 (31%)	6 (24%)	
<b>3</b>	5 (38%)	6 (24%)	
<b>4</b>	0	6 (24%)	
<b>5</b>	1 (8%)	3 (12%)	
<b>IPI≥3</b>	6 (46%)	15 (60%)	p= 0,32
<b>Atteinte SNC</b>	1 (8%)	3 (12%)	p= 0,58
<b>Atteinte osseuse</b>	1 (8%)	3 (12%)	p= 0,58
<b>BOM envahie</b>	2 (15%)	11 (44%)	p= 0,08
<b>LDH médian (UI/L)</b>	791 [357-1976]	1128 [168-9186]	
<b>LDH &gt; N</b>	11 (85%)	23 (92%)	p= 0,42
<b>LDH &gt; 2N</b>	7 (54%)	18 (72%)	p= 0,22
<b>Nombre localisations extra nodales&gt;1</b>	6 (46%)	10 (40%)	p= 0,49
<b>CD10</b>	8/12 (67%)	14/22 (64%)	p= 0,58
<b>Bcl-6</b>	6/7 (86%)	13/15 (87%)	p= 0,705
<b>Bcl-2</b>	4/11 (36%)	16/22 (73%)	p= 0,03
<b>Mib-1 &gt;90%</b>	9/11 (82%)	10/15 (67%)	p= 0,345
<b>Mib-1 &gt;95%</b>	6/11 (54,5%)	7/15 (47%)	p= 0,5
<b>Profil GC</b>	8/8 (100%)	15/20 (75%)	p= 0,375

**Tableau 11:** Comparaison des caractéristiques cliniques, biologiques et immunohistochimiques des lymphomes intermédiaires avec et sans translocation *C-MYC*.

e) Traitement des lymphomes B intermédiaires

Les 38 patients ont été traités avec différents protocoles de chimiothérapie, 2 principales catégories de patients ont donc été définies :

- ceux traités par une chimiothérapie standard de type R-CHOP : 12 patients (32%).
- ceux traités par une chimiothérapie plus intensive de type R-COPADM ou toute chimiothérapie comprenant du MTX ou de la cytarabine (Tableau 12): 26 patients (68%).

Le suivi médian de l'ensemble de la cohorte est de 15,5 mois [1,5- 149,5]. La durée médiane de traitement est de 3.6 mois [0.4-6.3] pour les patients ayant reçu une chimiothérapie standard et de 3.3 mois [0.7-7.9] pour les patients ayant reçu une chimiothérapie intensive. La grande majorité (92%) des patients ont reçu une chimiothérapie par MTX intrathécale (nombre médian : 5 [0-11]) et 74% ont reçu une préphase par COP. Parmi les 10 cas n'ayant pas reçu de préphase, seuls trois ont reçu un traitement intensif. Ces trois cas avaient une faible masse tumorale et un IPI inférieur à 2.

Type de chimiothérapie	Nombre de cas traité
<b>COPADM +/- R</b>	<b>17 (9 Rituximab) (4 autogreffé)</b>
<b>R-EPOCH, R-DA-DEPOCH</b>	<b>2</b>
<b>R-CEEP/ MTX-cytarabine</b>	<b>3 (dont 1 autogreffé)</b>
<b>R-CHOP-MTX/ CYVE</b>	<b>1</b>
<b>VCAP</b>	<b>1</b>
<b>Farmorubine-eldisine-MTX-EDX/ MTX-cytarabine</b>	<b>1</b>
<b>DHAP</b>	<b>1</b>

**Tableau 12:** Détail des protocoles de chimiothérapies intensives administrés aux patients

Nous avons comparé les caractéristiques cliniques et biologiques entre les deux groupes de traitement (Tableau 13). Il semble que les lymphomes avec une présentation clinique agressive (LDH >2N, stade élevée >3, BOM envahie, localisation extra-nodales >1) ont été plus fréquemment traités avec une chimiothérapie intensive (non significatif : NS). Les sujets âgés (> 65 ans) ont plus souvent reçu une chimiothérapie standard (NS). L'expression tumorale de la protéine Bcl-2 est présente chez tous les patients ayant reçu une chimiothérapie standard et chez seulement 39,1% des patients ayant reçu une chimiothérapie intensive (p=0,001).

	Traitement standard (n=12)	Traitement Intensif (n=26)	Test de Fischer
<b>Age médian (ans)</b>	56 [28-80]	53,5 [19-73]	
<b>Age &gt; 65 ans</b>	6/12 (50%)	8/26 (30,8%)	p= 0,22
<b>Sexe (F/M)</b>	5/7	8/18	p= 0,38
<b>PS</b>			
<b>0</b>	2 (17%)	6 (23%)	
<b>1</b>	6 (50%)	9 (35%)	
<b>2</b>	2 (17%)	10 (38%)	
<b>3</b>	2 (17%)	1 (4%)	
<b>4</b>	0	0	
<b>PS≥2</b>	4 (33,3%)	11 (42,3%)	p= 0,44
<b>Stade Ann Arbor</b>			
<b>1</b>	1 (8%)	3 (11,5%)	
<b>2</b>	3 (25%)	2 (8%)	
<b>3</b>	1 (8%)	5 (19%)	
<b>4</b>	7 (58%)	16 (61,5%)	
<b>Stade ≥ 3</b>	8 (66,7%)	21 (80,8%)	p= 0,29
<b>IPI</b>			
<b>0</b>	1 (8%)	2 (8%)	
<b>1</b>	2 (17%)	2 (8%)	
<b>2</b>	2 (17%)	8 (31%)	
<b>3</b>	4 (33%)	7 (27%)	
<b>4</b>	1 (8%)	5 (19%)	
<b>5</b>	2 (17%)	2 (8%)	
<b>IPI≥3</b>	7 (58,3%)	14 (53,8%)	p= 0,54
<b>Atteinte SNC</b>	2 (16,7%)	2 (7,7%)	p= 0,375
<b>Atteinte osseuse</b>	1 (8,3%)	3 (11,5%)	p= 0,625
<b>BOM envahie</b>	3 (25%)	10(38,5%)	p= 0,33
<b>LDH médian (UI/L)</b>	1128 [299-9186]	963 [168- 5915]	
<b>LDH &gt; N</b>	10/12 (83,3%)	24/26 (92,3%)	p= 0,375
<b>LDH &gt; 2N</b>	6/12 (50%)	19/26 (73,1%)	p= 0,15
<b>Nombre localisations extra-nodales &gt;1</b>	3/12 (25%)	13/26 (50%)	p= 0,14
<b>CD10</b>	5/10 (50%)	17/24 (70,8%)	p= 0,22
<b>MUM1</b>	3/3 (100%)	3/4 (75%)	p= 0,57
<b>Bcl-6</b>	5/7 (71,4%)	14/15 (93,3%)	p= 0,23
<b>Bcl-2</b>	10/10 (100%)	9/23 (39,1%)	p= 0,001
<b>Mib-1 &gt;90%</b>	3/6 (50%)	16/20 (80%)	p= 0,175
<b>Mib-1 &gt;95%</b>	2/6 (33,3%)	11/20 (55%)	p= 0,32
<b>Profil GC</b>	5/8 (62,5%)	17/20 (85%)	p= 0,21

**Tableau 13:** Comparaison des caractéristiques cliniques, biologiques et immunophénotypiques des patients traités par une chimiothérapie standard ou intensive

2) Taux de réponse au traitement

a) LBDGC et lymphomes intermédiaires

Le taux de réponse globale (réponse complète et réponse partielle) tous traitements confondus est significativement moins élevé (52,6% contre 81,2%,  $p=0,005$ ) dans le groupe lymphome B intermédiaire par rapport au groupe LBDGC (Tableau 14). Huit rechutes (21%) sont constatées dans les lymphomes intermédiaires et six (12,5%) dans les LBDGC ( $p=0,22$ ).

	Lymphome intermédiaire (n=38)	LBDGC (n=48)	Test de Fischer
<b>RC, RP</b>	20 (52,6%)	39 (81,2%)	$p= 0,005$
<b>Rechute</b>	8 (21%)	6 (12,5%)	$p= 0,22$

**Tableau 14:** Réponse à la chimiothérapie dans les lymphomes intermédiaires et les LBDGC (RC : réponse complète, RP : réponse partielle, I : intensif, S : standard)

b) Taux de réponse en fonction du type de traitement dans les lymphomes intermédiaires

Une réponse globale est observée chez 65,9% des 26 patients traités par une chimiothérapie intensive contre seulement 25% pour les 12 patients ayant reçu une chimiothérapie standard ( $p=0,02$ ). De plus, le taux de rechute est significativement moins élevé chez les patients ayant reçu une chimiothérapie intensive (11,5% contre 41,7%,  $p=0,049$ ) (Tableau 15).

Parmi les 12 patients traités par une chimiothérapie standard en première ligne, 7 ont reçu un traitement de deuxième ligne (4 rechutes et 3 réponses partielles) dont 4 par du R-DHAP ou R-DHAC, 1 par du GEMOX et 2 par un traitement palliatif (radiothérapie et chimiothérapie orale). Une troisième ligne de chimiothérapie de type R-COPADM a été réalisée chez 3 des 4 patients ayant reçu du R-DHAP ou R-DHAC en première rechute, un seul a obtenu une rémission complète, tous les autres ont progressé.

Parmi les 26 patients traités par une chimiothérapie intensive, 7 ont reçu une chimiothérapie de deuxième ligne (3 réponses partielles, 2 progressions, 2 rechutes) dont 4 par du R-DHAP, 1 par du R-ICE, 1 par du ESHAP et un par une chimiothérapie palliative. Un seul est toujours en réponse complète grâce au traitement de rattrapage.

	Traitement standard (n=12)	Traitement Intensif (n=26)	Test de Fischer
<b>RC, RP</b>	3 (25%)	17 (65,9%)	$p= 0,02$
<b>Rechute</b>	5 (41,7%)	3 (11,5%)	$p= 0,049$

**Tableau 15:** Réponse aux différents schémas de chimiothérapie (RC : Réponse complète, RP : réponse partielle)

### 3) Mortalité et toxicités des traitements

A la date des dernières nouvelles (DDN), 20 patients atteints de lymphome B intermédiaire sont décédés (53%) alors que seulement 11 patients atteints de LBDGC sont décédés (23%) ( $p=0,004$ ). Sur les 20 décès du groupe lymphome intermédiaire, 17 sont secondaires à une progression du lymphome, un patient est décédé d'une infection pulmonaire, un autre d'un choc septique et le dernier d'une aplasie fébrile. Parmi les 11 décès du groupe LBDGC, la cause du décès était renseignée pour 8 patients. Cinq sont décédés d'une évolution du lymphome, un cas d'une cardiopathie ischémique, un cas d'un surdosage en AVK (Antivitamine K) et le dernier d'une pneumopathie.

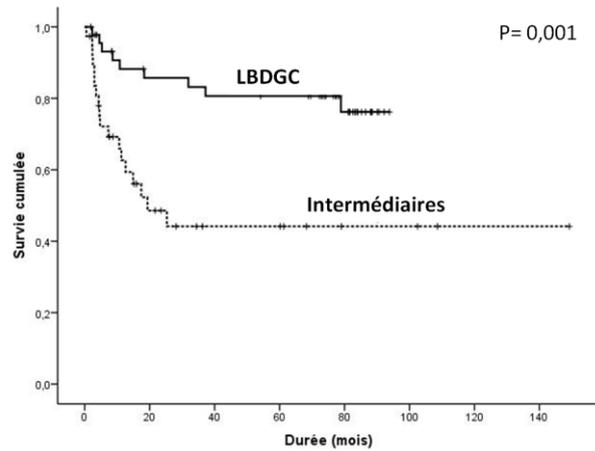
Parmi les 26 patients ayant reçu un traitement intensif, nous avons constaté 3 décès toxiques (2 infections pulmonaires et 1 aplasie fébrile). Aucun décès secondaire à une toxicité du traitement n'a été retrouvé dans le groupe de patients traité par une chimiothérapie standard.

Sur les 26 patients ayant reçu une chimiothérapie intensive, les données de toxicité de 19 patients étaient disponibles. Tous les patients ayant reçu une chimiothérapie de type COPADM ont présenté au moins une fois une neutropénie de grade 4. Cette neutropénie de grade 4 est également présente chez 2 des 3 patients ayant reçu un schéma de type R-CEEP/MTX-Cytarabine et 1 des 2 patients ayant reçu du R-EPOCH. Parmi les 12 patients traités par COPADM avec une neutropénie de grade 4, 9 ont présenté un syndrome infectieux dont 4 avec une documentation bactériologique et 1 choc septique. Tous les patients traités par CODADM ont reçu des facteurs de croissance granulocytaire. Aucune autre toxicité n'a été rapportée.

### 4) Survie sans progression des patients atteints de lymphome intermédiaire

#### a) Comparaison avec les LBDGC

La médiane de survie sans progression (SSP) chez les patients ayant un lymphome B intermédiaire (tous traitements confondus) est de 19,3 mois [3,9-36,4] alors que cette médiane n'est pas atteinte chez les patients ayant un LBDGC ( $p=0,001$ ) (Figure 13).



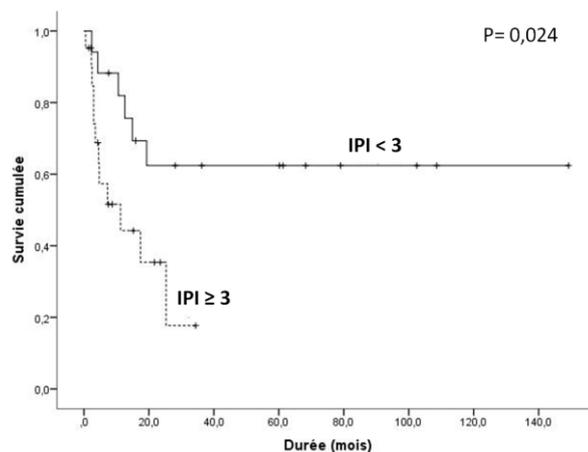
**Figure 13:** SSP des lymphomes intermédiaires et des LBDGC tous traitements confondus

*b) Survie sans progression en fonction des caractéristiques cliniques et biologiques*

La seule variable associée à une meilleure SSP en analyse univariée est un IPI < 3 (non atteinte contre 11,3 mois [0-23,3], p=0,02) (Tableau 16, Figure 14).

Caractéristiques (n= 38)	Survie sans progression	
	Médiane (mois)	p
<b>Age</b>		
≥ 65 ans/<65 ans	11,3/NA	0,08
<b>Performans status</b>		
≥ 2/<2	12,6/25,3	0,4
<b>Stade Ann Arbor</b>		
≥3/<3	19,3/NA	0,62
<b>Nombre de localisation extra nodales &gt;1</b>		
Oui/Non	12,6/25,3	0,51
<b>Envahissement médullaire</b>		
Oui/Non	11,3/25,3	0,27
<b>Envahissement osseux</b>		
Oui/Non	NA/19,3	0,6
<b>Envahissement SNC</b>		
Oui/Non	3/19,3	0,34
<b>IPI</b>		
≥3 /<3	11,3/NA	0,02
<b>LDH (UI/L)</b>		
>N (Oui/Non)	19,3/14,9	0,78
>2N (Oui/Non)	19,3/NA	0,6

**Tableau 16:** SSP des lymphomes intermédiaires en fonction des caractéristiques cliniques et biologiques (p= valeur p de significativité statistique).



**Figure 14:** SSP en analyse univariée des lymphomes B intermédiaires en fonction de l'IPI.

*b) Survie sans progression en fonction des caractéristiques immunohistochimiques*

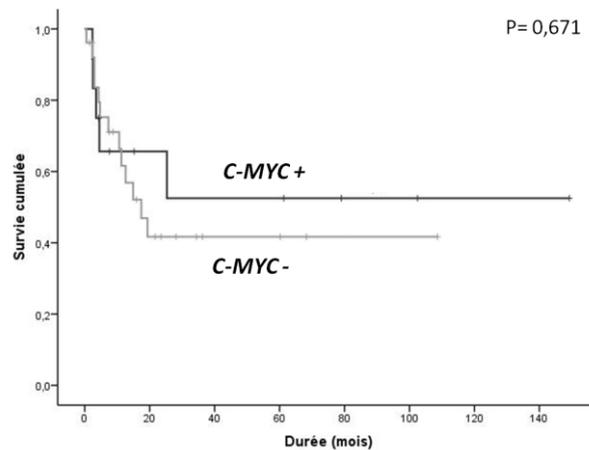
L'analyse univariée des caractéristiques immunohistochimiques montre que l'expression de la protéine Bcl-2 (plus fréquente dans le groupe de patients traités par une chimiothérapie standard) n'a pas d'impact sur la SSP. Il n'y a pas de différence de médiane de SSP en fonction du profil GC/non-GC. (Tableau 17).

Survie sans progression		
Caractéristiques	Médiane (mois)	p
<b>CD10 (n= 34)</b>		
Oui/Non	19,3/25,3	0,72
<b>Bcl-2 (n= 33)</b>		
Oui/Non	14,9/NA	0,2
<b>Bcl-6 (n= 22)</b>		
Oui/Non	NA/11,3	0,32
<b>MUM1 (n= 7)</b>		
Oui/Non	-/-	0,33
<b>Mib-1&gt;95% (n= 26)</b>		
Oui/Non	10,6/NA	0,12
<b>GC (n= 29)</b>		
Oui/Non	19,3/12,6	0,91

**Tableau 17:** SSP des lymphomes intermédiaires en fonction des caractéristiques immunohistochimiques (p= valeur p de significativité statistique).

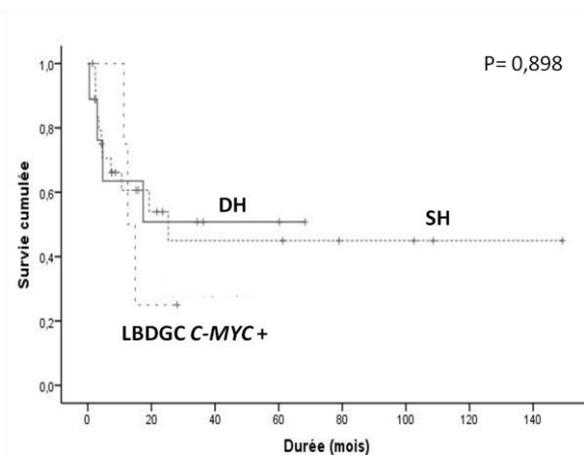
d) Survie sans progression en fonction des caractéristiques cytogénétiques

Il n'y a pas de différence de survie sans progression entre les lymphomes « intermédiaires » arborant une translocation du gène *C-MYC* et les lymphomes « intermédiaires » sans translocation de *C-MYC*. La médiane de SSP est de 17,4 mois [8,1-26,7] pour les *C-MYC* + et non atteinte pour les patients sans translocation ( $p=0,67$ ) (Figure 15).



**Figure 15:** SSP des patients en fonction de la translocation du gène *C-MYC*.

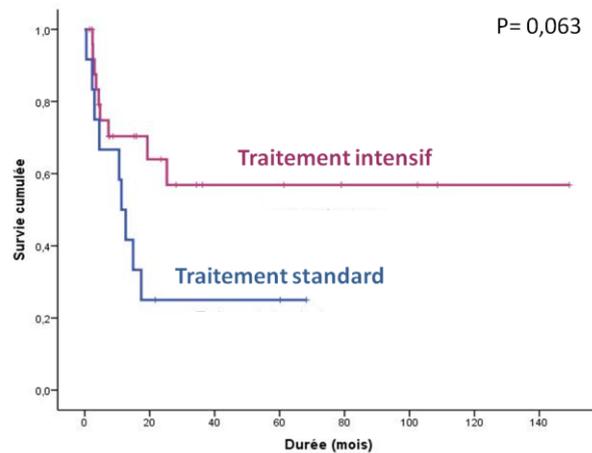
La médiane de SSP des lymphomes B intermédiaires présentant une simple translocation du gène *C-MYC* est de 25,3 mois [2,5-48], celle des patients avec une double translocation (*C-MYC-BCL2* ou *C-MYC-BCL6*) est non atteinte et celle du groupe LBDGC avec une translocation du gène *C-MYC* est de 12,6 mois [9-16]. Il n'y a pas de différence significative de SSP entre ces trois sous-groupes (Figure 16).



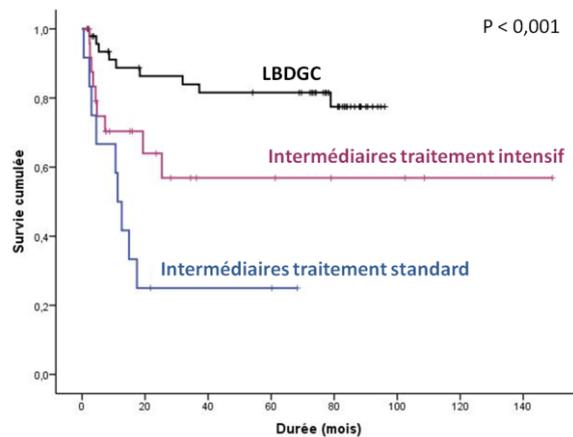
**Figure 16:** SSP des lymphomes intermédiaires en fonction du caractère « double hit », « simple hit » et des LBDGC avec translocation du gène *C-MYC* (DH : *CMYC-BCL2*, *C-MYC-BCL6* ; SH : *C-MYC*)

e) Impact du traitement intensif dans les lymphomes intermédiaires

La médiane de SSP est de 11,3 mois [7,9-14,8] dans le groupe de patients ayant reçu une chimiothérapie standard alors qu'elle est non atteinte dans le groupe traité intensivement ( $p=0,06$ ) (Figure 17). Cette survie reste malgré tout inférieure à celle des LBDGC (Figure 18).



**Figure 17:** SSP des lymphomes intermédiaires selon le type de traitement.



**Figure 18:** SSP des lymphomes intermédiaires selon le type de traitement, comparaison avec la SSP des LBDGC

Dans le sous-groupe de patients arborant une translocation du gène *C-MYC*, la médiane de SSP est de 11,3 mois [8,2-4,4] chez les patients traités par R-CHOP et non atteinte chez les patients ayant reçu un traitement intensif ( $p=0,092$ ) (Cf Annexe 2).

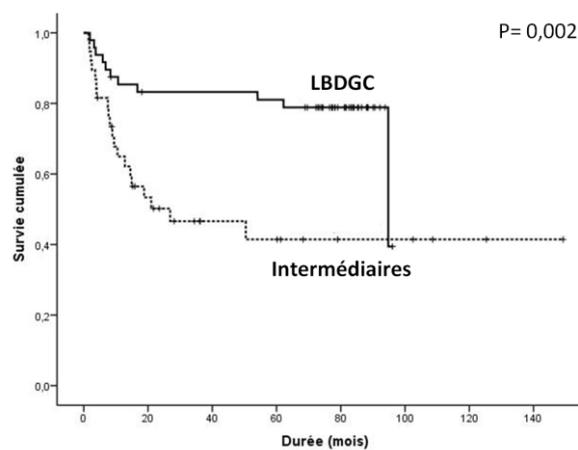
f) Facteurs pronostiques de survie sans progression

L'analyse multivariée montre que seul l'IPI reste significativement associé à la SSP (Tableau 20). Le taux de LDH et l'envahissement médullaire ne sont pas des variables significativement associées à la SSP de lymphomes « intermédiaires ». L'expression protéique de Bcl-2 n'a pas d'impact pronostique.

5) Survie globale des patients atteints de lymphomes B intermédiaires

a) Comparaison avec les LBDGC

La médiane de survie globale (SG) des patients atteints de lymphome B intermédiaire est de 26,9 mois [0-66,4] contre 94,8 mois [49,4-140,2] pour les LBDGC ( $p=0,002$ ) (Figure 19).



**Figure 19:** SG des lymphomes intermédiaires et des LBDGC tous traitements confondus.

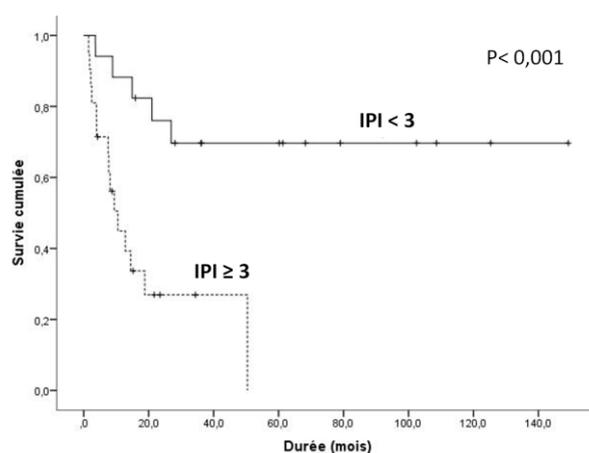
b) Survie globale en fonction des caractéristiques cliniques et biologiques

Les variables significativement associées à une meilleure SG en analyse univariée sont (Tableau 18):

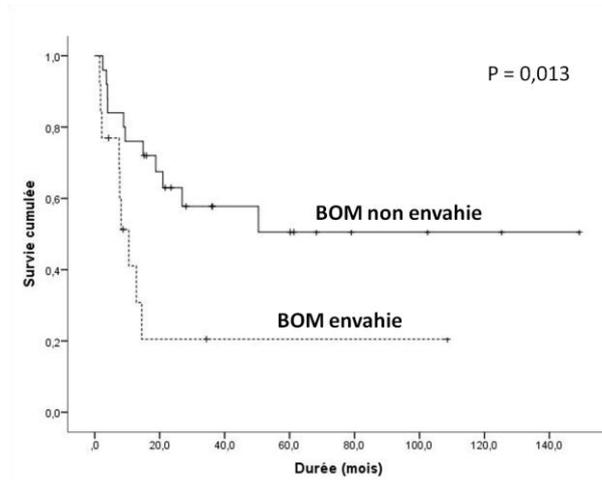
- Un IPI < 3 (non atteinte contre 10,5 mois [5,7-15,2],  $p < 0,001$ ) (Figure 20)
- L'absence d'envahissement médullaire (non atteinte contre 10,5 mois [6,2-14,8],  $p = 0,01$ ) (Figure 21)
- Un âge inférieur à 65 ans (non atteinte contre 9,4 mois [0-20,5],  $p=0,04$ ) (Figure 22)

		Survie globale	
Caractéristiques (n= 38)		Médiane (mois)	p
<b>Age</b>			
	≥65 ans/ <65 ans	9,4/NA	0,04
<b>Performans status</b>			
	≥2/<2	12,8/50,4	0,27
<b>Stade Ann Arbor</b>			
	≥3/<3	18,8/NA	0,44
<b>Nombre de localisation extra nodales &gt;1</b>			
	Oui/Non	14,9/26,9	0,63
<b>Envahissement médullaire</b>			
	Oui/Non	10,5/NA	0,01
<b>Envahissement osseux</b>			
	Oui/Non	10,5/26,9	0,98
<b>Envahissement SNC</b>			
	Oui/Non	3,9/21	0,42
<b>IPI</b>			
	≥3/<3	10,5/NA	0,001
<b>LDH (UI/L)</b>			
	>N		
	Oui/Non	21/26,9	0,63
	>2N		
	Oui/Non	14,5/NA	0,09

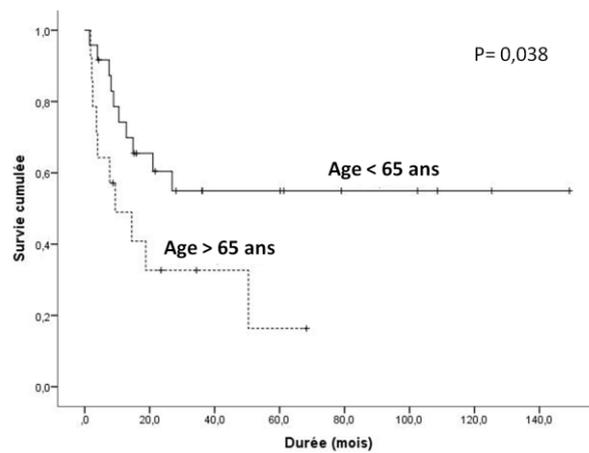
**Tableau 18:** SG des lymphomes intermédiaires en fonction des caractéristiques cliniques et biologiques (p= valeur p de significativité statistique)



**Figure 20:** SG en analyse univariée des lymphomes B intermédiaires en fonction de l'IPI.



**Figure 21 :** SG en analyse univariée des lymphomes B intermédiaires en fonction de l’envahissement médullaire.



**Figure 22:** SG en analyse univariée des lymphomes B intermédiaires en fonction de l’âge.

*c) Survie globale en fonction des caractéristiques immunohistochimiques*

L’analyse univariée des caractéristiques immunohistochimiques montre que l’expression de la protéine Bcl-2 n’a pas d’impact sur la SG. Il n’y a pas de différence de médiane de SG en fonction du profil GC/non-GC (Tableau 19).

Caractéristiques	Survie globale	
	Médiane (mois)	p
<b>CD10 (n= 34)</b>		
<b>Oui/Non</b>	21/50,4	0,43
<b>Bcl-2 (n=33)</b>		
<b>Oui/Non</b>	18,8/NA	0,24
<b>Bcl-6 (n= 22)</b>		
<b>Oui/Non</b>	NA/14,6	0,27
<b>MUM1(n= 7)</b>		
<b>Oui/Non</b>	-/-	0,40
<b>Mib-1&gt;95% (n=26)</b>		
<b>Oui/Non</b>	26,9/NA	0,27
<b>GC (n= 29)</b>		
<b>Oui/Non</b>	12,8/NA	0,29

**Tableau 19:** SG des lymphomes intermédiaires en fonction des caractéristiques immunohistochimiques (p= valeur p de significativité statistique).

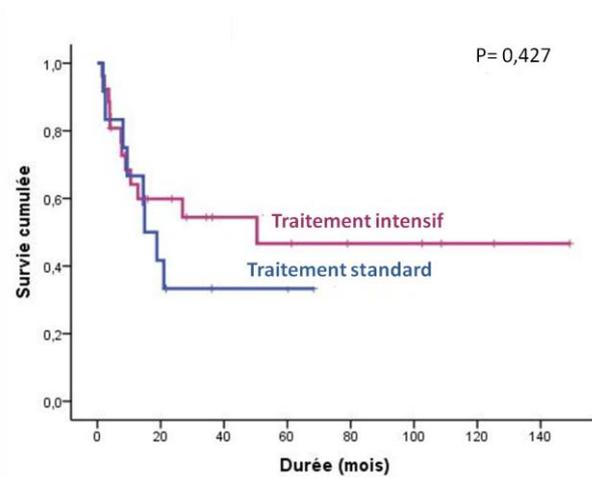
*d) Survie globale en fonction des caractéristiques cytogénétiques*

La médiane de SG est de 18,8 mois [8,9-28,7] pour les patients présentant une translocation du gène *C-MYC* et non atteinte pour les cas sans translocation (p=0,33) (Cf Annexe 3).

Il n'y a pas de différence de survie globale entre les patients arborant une double translocation des gènes *C-MYC-BCL2* ou *C-MYC-BCL6*, une simple translocation de *C-MYC* ou aucune translocation (Cf Annexe 4).

*e) Impact du traitement intensif dans les lymphomes B intermédiaires*

Il n'y a pas de différence de SG entre les patients traités intensivement et ceux traités avec une chimiothérapie standard (p=0,43) (Figure 23).



**Figure 23:** Survie globale des lymphomes intermédiaires en fonction du type de traitement reçu.

Dans le sous groupe de patients arborant une translocation du gène *C-MYC*, la médiane de SG est de 14,9 mois [8,2-21,5] chez les patients traités intensivement et de 26,9 mois [0-54,8] chez les patients traités par une chimiothérapie standard ( $p=0,7$ ) (Cf Annexe 5).

*f) Facteurs pronostiques de survie globale*

En analyse multivariée, seul le l'IPI reste significativement associé à la SG (Tableau 20). L'expression de la protéine Bcl-2 n'a pas d'impact pronostique sur la SG.

Caractéristiques	N	RR	IC 95%	p
<b>Survie globale</b>				
<b>IPI <math>\geq 3</math></b>	38	5,6	1,5-21	0,012
<b>Survie sans progression</b>				
<b>IPI <math>\geq 3</math></b>	38	3	1,1-8,2	0,031

**Tableau 20:** Analyse multivariée des facteurs pronostiques de SG et de SSP (N= Nombre de cas évalués, RR= risque relatif, IC 95% : intervalle de confiance à 95%, p= valeur p de significativité statistique).

## DISCUSSION

Dans cette étude rétrospective, nous avons identifié 38 patients répondant à la définition de lymphomes intermédiaires. Dans cette population traitée de façon hétérogène dans deux centres (Tours et Clermont-Ferrand), nous avons observé un pronostic plus péjoratif de ces lymphomes par rapport à une cohorte rétrospective de LBDGC. Cependant dans le groupe de patients atteints d'un lymphome intermédiaire traité par une chimiothérapie intensifiée, nous avons observé un taux de réponse complète plus élevé, un nombre de rechutes moins important, et une SSP plus longue. Nous discuterons la portée de ces résultats à la lumière des données de la littérature sur les translocations de *C-MYC*, l'algorithme de Hans, les algorithmes diagnostiques disponibles, les caractéristiques cliniques de ces lymphomes ainsi que leur traitement avant d'ouvrir des perspectives thérapeutiques.

### 1) Translocation du gène *C-MYC*

Dans les différentes études s'intéressant aux lymphomes B intermédiaires, l'incidence de la translocation de *C-MYC* est entre 30 et 60 %.<sup>119,129,132</sup> Nous avons retrouvé dans notre étude une incidence de la translocation de *C-MYC* de 45% (15/33), ce qui est en accord avec les données publiées. Quarante pour cent des patients présentant une translocation de *C-MYC* ont une double translocation (8/20), impliquant majoritairement le gène *BCL2* (7 cas sur 8), comme décrit dans la littérature.<sup>109</sup>

Le partenaire de *C-MYC* n'est pas toujours le gène codant pour la chaîne lourde de l'Ig dans ce type de lymphome mais peut concerner d'autres gènes dans environ 20% des cas.<sup>114,132</sup> L'analyse de ce partenaire paraît essentielle, en effet les translocations avec un gène non-Ig conférerait aux patients une meilleure survie.<sup>115</sup> Cette caractéristique n'a pas pu être analysée dans notre travail, non seulement du fait du caractère rétrospectif de cette étude mais également du fait de l'absence de disponibilité de la technique dans notre établissement. L'absence de ces données pourrait induire un biais dans nos résultats, cependant sur les 15 patients présentant une translocation de *C-MYC* et ayant reçu une chimiothérapie intensive, 5 ont progressé sous traitement ou rechuté et parmi les 10 autres, 6 présentaient un IPI  $\geq 3$  avec des caractéristiques cliniques et biologiques d'agressivité, ce qui laisse penser que nous n'avons pas surtraité d'éventuels patients « favorables ».

L'incidence de la translocation de *C-MYC* parmi les LBDGC n'a pas été déterminée dans notre étude car nous avons sélectionné des patients diagnostiqués en 2005-2006 (afin d'avoir une durée de suivi suffisante), pour lesquels la recherche de la translocation de *C-MYC* n'était pas réalisée en pratique courante.

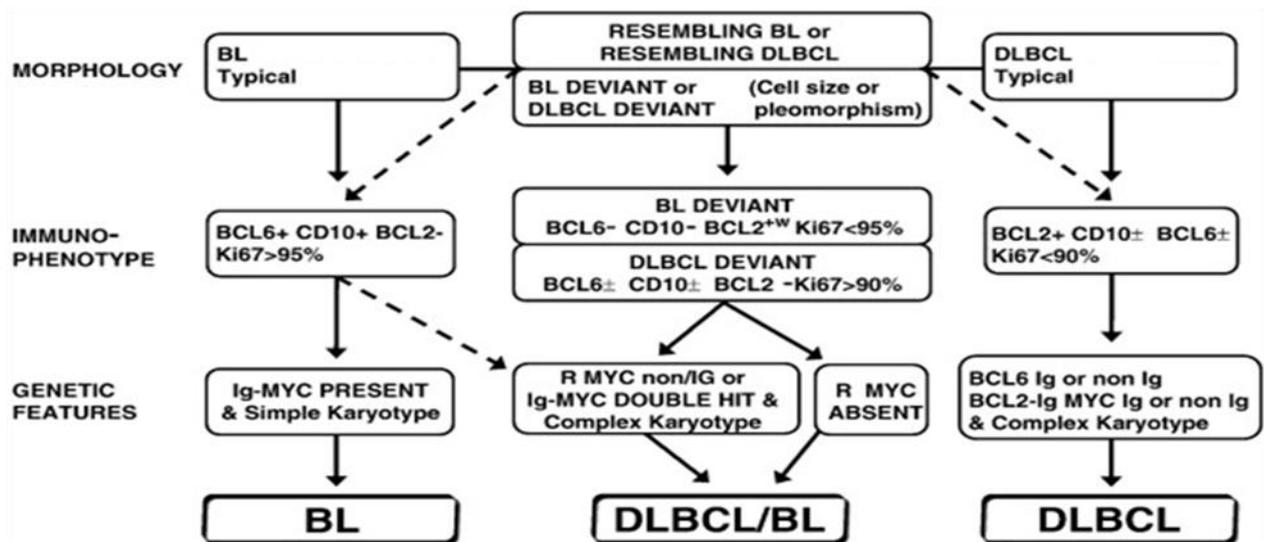
## 2) Algorithme de Hans

Nous avons utilisé l'algorithme de Hans afin de classer les patients selon leur profil GC ou non-GC lorsque les données d'IHC étaient disponibles. Nous avons ainsi évalué 29 patients et avons constaté 79.3% de profil GC, ce qui est en accord avec les données publiées. L'équipe de Li *et al*<sup>111</sup> a étudié les caractéristiques cliniques, histologiques et immunohistochimiques de 60 patients atteints de lymphomes présentant une double translocation *C-MYC-BCL2*. Le profil immunohistochimique était évaluable pour 48 cas et parmi eux 98% (n=47) présentaient un profil GC du fait d'une expression du CD10. Cependant, ces données peuvent être discutées. En effet, bien qu'il ait été démontré que le profil d'expression génique GC/ABC a un impact pronostique dans les LBDGC traités par CHOP<sup>39,40</sup> et par R-CHOP<sup>133</sup>, la spécificité et la sensibilité de ce profil d'expression en immunohistochimie est contestée. En effet, l'étude de Hans *et al.* retrouvait une corrélation de cet algorithme immunohistochimique avec le profil d'expression génique de 71 % dans les sous-types GC et de 88% dans les sous-types non-GC.<sup>24</sup> De plus, une étude sur des patients inclus dans le protocole LNH98-5 du GELA et traités par immuno-chimiothérapie n'identifiait pas le phénotype GC/non-GC comme facteur prédictif de survie.<sup>134</sup> L'équipe d'Ott *et al* a également étudié l'impact pronostique de cet algorithme immunohistochimique chez 506 patients traités par CHOP ou R-CHOP inclus dans le protocole RICOVER-60.<sup>47</sup> Les auteurs n'ont pas retrouvé d'impact pronostique de cet algorithme. Enfin, le consortium de Lunenburg observait des résultats très variables au sein de plusieurs laboratoires spécialisés en IHC à travers le monde avec de très faibles scores de reproductibilité.<sup>135</sup> Les études utilisant un algorithme immunohistochimique afin de définir le profil GC/non-GC des lymphomes sont donc à interpréter avec prudence et des bio-marqueurs standardisés moins coûteux que le transcriptome et plus fiables que l'immunohistochimie restent à développer.

Dans notre étude, nous n'avons pas retrouvé de valeur pronostique du profil GC/non-GC que ce soit en SSP ou en SG. Cependant, le nombre de patients évaluables était limité (28 patients) et il est possible que la valeur pronostique de cette classification ne soit pas applicable à la population des lymphomes « intermédiaires ».

## 3) Algorithme diagnostique

Une caractérisation morphologique, cytogénétique et immunohistochimique est essentielle afin d'établir le diagnostic de lymphome intermédiaire. Une équipe italienne a pour cela récemment proposé un algorithme diagnostique afin d'aider à leur distinction vis-à-vis des LB et des LBDGC (Figure 24).<sup>136</sup>



**Figure 24:** Algorithme diagnostique proposé pour les lymphomes B avec des caractéristiques intermédiaires entre le LB et le LBDGC.<sup>136</sup>

Dans notre étude, nous avons considéré comme lymphome intermédiaire tous les lymphomes arborant une double translocation de *C-MYC-BCL2* ou *C-MYC-BCL6* et tous les cas initialement considérés LB mais ne présentant pas de translocation de *C-MYC* ou exprimant Bcl-2. Ce choix peut être discuté. En effet, plusieurs auteurs considèrent que les lymphomes avec une morphologie et une immunohistochimie compatible avec un LBDGC doivent être classés comme tels même s'ils présentent une double translocation.<sup>109</sup> La question se pose également concernant les LBDGC *C-MYC+* et les LB sans translocation de *C-MYC* (environ 10% avec les techniques actuellement utilisées<sup>1</sup>).

Outre son caractère rétrospectif, la principale difficulté de notre étude consiste en une couverture incomplète de l'étude cytogénétique des LBDGC. En effet, tous les diagnostics de LBDGC ont été réalisés avant la nouvelle classification OMS 2008, la translocation du gène *C-MYC* n'était donc pas recherchée de manière systématique que ce soit par la technique de FISH ou en cytogénétique standard. De ce fait, il est possible que, certains patients aient été classés de manière incorrecte du fait de l'absence de données cytogénétiques au moment du diagnostic.

#### 4) *C-MYC* et immunohistochimie

Afin de pallier ces difficultés techniques, depuis quelques années, un anticorps monoclonal ciblant la partie N-terminal de la protéine C-Myc est utilisé. Bien que plusieurs études aient démontré sa faisabilité (96% des cas analysés) et son impact pronostique (diminution du taux de réponse, de la survie globale et de la survie sans progression)<sup>125,126,128</sup> avec un seuil de positivité de 40%, la

concordance avec les techniques cytogénétiques reste encore discutée. En effet, dans l'étude d'Horn *et al.*, parmi les 26 patients arborant une translocation du gène *C-MYC*, seulement 18 avaient une surexpression de la protéine en IHC (69,2%). Les auteurs préconisent d'utiliser les deux techniques avec un dépistage en IHC et la réalisation d'une FISH sur les échantillons dont le taux d'expression protéique est supérieur à 20% afin d'avoir une sensibilité de 92%. L'étude de Copie-Bergman *et al.* trouvait une surexpression de la protéine C-Myc (avec un seuil de positivité à 70%) chez seulement 66% des cas arborant une translocation de *C-MYC*.<sup>17</sup> Enfin, l'équipe de Horn *et al.* et une étude récente sur 219 patients identifiaient de manière intéressante un groupe de patients présentant une surexpression protéique de C-Myc sans altération du gène (27,8%<sup>128</sup> et 19%<sup>137</sup>), indiquant que d'autres mécanismes sont nécessaires à l'expression protéique.

A l'heure actuelle, l'efficacité de l'IHC pour détecter la présence de translocations de *C-MYC* et pour définir un groupe de patients avec un pronostic défavorable semble intéressante. Cependant l'identification consensuelle d'un seuil de positivité est essentielle pour l'utilisation de ces nouveaux bio-marqueurs dans la pratique quotidienne à la place de la cytogénétique (qui reste à l'heure actuelle la méthode de référence). De plus, dans l'étude de Johnson *et al.* la médiane de survie des patients arborant une double translocation *C-MYC-BC2* en cytogénétique était plus courte que celle des patients exprimant les protéines C-Myc et Bcl-2 en IHC, suggérant un pronostic différent entre ces 2 groupes de patients<sup>125</sup>.

Dans notre étude, le profil immunohistochimique de C-Myc n'a pas pu être analysé, l'anticorps n'étant pas disponible dans le laboratoire d'anatomopathologie de Tours.

#### 5) Caractéristiques cliniques, immunohistochimiques et survie des lymphomes B avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB

Depuis plusieurs années, la présence d'une translocation du gène *C-MYC* dans les lymphomes a été décrite comme leur conférant un caractère très agressif<sup>13-15,107,122</sup>.

##### a) Lymphomes « double-hit »

De nombreuses études se sont intéressées spécifiquement aux caractéristiques cliniques des patients arborant une double translocation *C-MYC-BCL2*. La médiane d'âge varie entre 51 et 65 ans, la majorité des cas se présentent avec des LDH élevées, un stade avancé, un envahissement extra-nodal, médullaire ou du SNC et un IPI élevé (Tableau 21). Ces données ont été confirmées dans notre étude. Nous avons constaté 9 patients DH, l'âge médian est de 69 ans, 79% ont un stade avancé, 89% ont des LDH élevés, 55% un envahissement médullaire et 67% un IPI supérieur à 3. Cependant peu d'études se sont intéressées à l'ensemble des lymphomes intermédiaires présentant les caractéristiques anatomopathologiques ou immunohistochimiques décrites dans la nouvelle classification OMS 2008.

<b>Etude</b>	<b>Nombre DH</b>	<b>Age médiann</b>	<b>Stade III-IV (%)</b>	<b>LDH &gt; N (%)</b>	<b>BOM (%)</b>	<b>SNC (%)</b>	<b>Nombre de localisations extra- nodales &gt; 1 (%)</b>	<b>IPI&gt; 3 (%)</b>
<b>Bertrand <i>et al</i> 2007</b> <sup>114</sup>	10	58 (45-81)	70	-	-	-	-	56
<b>Johnson <i>et al</i> 2009</b> <sup>116</sup>	54	62 (24-93)	76	50	71	-	35	70
<b>Kanungo <i>et al</i> 2006</b> <sup>117</sup>	14	55 (29-72)	-	93	79	21	57	-
<b>Le Guill <i>et al</i> 2007</b> <sup>118</sup>	16	61 (36-73)	100	100	94	50	88	81
<b>Macpherson <i>et al</i> 1999</b> <sup>119</sup>	15	65	92	80	69	-	62	90
<b>Niitsu <i>et al</i> 2009</b> <sup>120</sup>	19	61 (29-79)	100	100	84	21	63	89
<b>Snuderl <i>et al</i> 2010</b> <sup>16</sup>	20	64 (32-91)	95	100	59	45	30	85
<b>Tomita <i>et al</i> 2009</b> <sup>121</sup>	27	51 (36-79)	96	93	65	9	65	87
<b>Pedersen <i>et al</i> 2012</b> <sup>123</sup>	17	61	82	82	24	-	47	64
<b>Li <i>et al</i> 2012</b> <sup>111</sup>	52	55 (18-76)	74	82	57	23	>2 : 55	>2 : 63
<b>Etude Tours 2013</b>	9	69 (45-80)	79	89	55,5	22	11	67

**Tableau 21:** Caractéristiques cliniques des lymphomes DH, données de la littérature.

b) Lymphomes B non classables avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB

Une équipe américaine a publié en 2011 une étude sur cette nouvelle entité de lymphome intermédiaire entre les LBDGC et les LB, les auteurs décrivaient les caractéristiques cliniques des patients en fonction de la translocation du gène *C-MYC*.<sup>129</sup> Ils ont ainsi inclus 52 patients (30 avec une translocation du gène *C-MYC* en FISH et 22 sans translocation *C-MYC*). Tous patients confondus, ils retrouvaient un stade > III dans 61.5% des cas, un nombre de localisations extra-nodales > 1 dans 40%, un PS > 2 dans 29%, des LDH > 2N dans 35% et un IPI > 3 dans 54 % des cas.

Au diagnostic, les patients atteints de lymphome B intermédiaire inclus dans notre étude présentent des caractéristiques cliniques et biologiques agressives. En effet, on a observé un stade avancé (III-IV : 76%), un PS élevé ( $\geq 2$  : 39%), un envahissement du SNC fréquent (10.5%), des localisations extra-nodales (>1 : 42%), des LDH élevés (LDH > 2N 66%), et un IPI élevée (IPI  $\geq 3$  dans 55%). Ces caractéristiques cliniques agressives sont en accord avec les données de l'étude de Pein Lin *et al.*<sup>129</sup> De manière identique à cette étude, nous n'avons constaté aucune différence en termes de caractéristiques cliniques ou biologiques en fonction de la présence ou non d'une translocation du gène *C-MYC* (simple ou double translocation).

c) Caractéristiques immunohistochimiques

L'étude du profil immunohistochimique de ces lymphomes dans notre étude retrouve une prédominance de profil GC (80%) par rapport aux LBDGC, une expression plus fréquente de CD10 (65%), de Bcl-6 (86%) et un Mib-1 >90% chez 73% des patients. Nous n'avons en revanche retrouvé aucune différence entre les patients *C-MYC*+ et *C-MYC*- hormis l'expression de Bcl-2 significativement plus fréquente dans les lymphomes *C-MYC*+. Ces résultats sont en désaccord avec l'étude de Pein Lin *et al* qui retrouvait comme seule différence une fréquence plus élevée d'expression du CD10 dans les lymphomes arborant une translocation de *C-MYC*. Il est cependant difficile d'émettre des conclusions d'après ces résultats du fait du caractère rétrospectif de ces deux études, du nombre limité de patients et de la variabilité des techniques d'immunohistochimie qui ont pu être utilisées.

d) Survie

Le pronostic et la survie de ces lymphomes, que ce soit les lymphomes B intermédiaires sans translocation, avec translocation de *C-MYC*, « *double-hit* » ou encore les LBDGC avec translocation

de *C-MYC*, est très péjoratif. Plusieurs études ont en effet démontré que la présence d'une translocation de *C-MYC* altérait la survie des LBDGC quel que soit le traitement reçu (Tableau 22).

<b>SURVIE GLOBALE</b>				
<b>Etude</b>	<b>Traitement</b>	<b>C-MYC-</b>	<b>C-MYC+</b>	<b>p</b>
<b>Macpherson <i>et al</i> 1999</b> <sup>119</sup> N= 24	CHOP (45%) Autres (45%)	8 mois	7 mois	-
<b>Yoon <i>et al</i> 2008</b> <sup>12</sup> N= 14	CHOP ± R	NA	42.2 mois	<b>0.012</b>
<b>Klapper <i>et al</i> 2008</b> <sup>13</sup> N= 14	CHOP/ CHOEP	-	-	<b>0.047</b>
<b>Obermann <i>et al</i> 2009</b> <sup>107</sup> N= 9	CHOP	80 mois	9 mois	-
<b>Savage <i>et al</i> 2009</b> <sup>15</sup> N= 12	R-CHOP	72%*	33%*	<b>0,016</b>
<b>Barrans <i>et al</i> 2010</b> <sup>14</sup> N= 35	R-CHOP	61%**	35%**	<b>HR= 2,03**</b>
<b>Niitsu <i>et al</i> 2009</b> <sup>120</sup> N= 43	CHOP ± R/ Autres	84%**	65%**	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Akyurek <i>et al</i> 2012</b> <sup>122</sup> N= 14	R-CHOP	-	-	<b>0,01</b>
<b>Copie-bergman <i>et al</i> 2012</b> <sup>17</sup> N= 53	R-CHOP/ R-ACVBP	73,7%*	57,7%*	<b>0.01</b>

**Tableau 22:** Données de survie des LBDGC présentant une translocation de *C-MYC*, données de la littérature. (\* : SG à 5 ans, \*\* : SG à 2 ans, HR : Hazard Ratio, NA : Non atteinte, p : valeur p de significativité statistique, R : Rituximab)

Plusieurs études se sont également intéressées spécifiquement à la survie des patients arborant une double translocation (Tableau 23). Selon plusieurs auteurs, la présence d'une double translocation aurait pour conséquence un pronostic encore plus défavorable par rapport aux patients présentant une simple translocation. Cependant ces résultats restent encore discutés et ont été remis en question dans l'étude de Pedersen *et al*<sup>123</sup> et dans une série de patients inclus dans des protocoles du GELA.<sup>17</sup> La survie globale est généralement inférieure à un an quel que soit le type de traitement (entre 4 et 18 mois selon les études).

La survie des patients atteints de lymphomes considérés inclassables avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB est dans notre étude significativement plus faible par rapport aux LBDGC tout-venant diagnostiqués en 2005-2006. La médiane de survie sans progression (SSP) (tous traitements confondus) est de 19,3 mois [3,9-36,4] dans les lymphomes B intermédiaires et non atteinte dans les LBDGC ( $p=0,001$ ). La médiane de survie globale (SG) des patients atteints de lymphome B intermédiaire, quant à elle, est de 26,9 mois [0-66,4] contre 94,8 mois [49,4-140,2] pour les LBDGC ( $p=0,002$ ). Seul l'IPI a été mis en évidence comme facteur pronostique de survie sans progression et de survie globale. Nous n'avons en revanche pas constaté de différence de SSP et de SG entre les patients « *double-hit* » et les patients avec une simple translocation de *C-MYC* (Tableau 23).

Ces résultats de survie confirment bien le caractère très agressif de cette entité et mettent en avant la nécessité de les identifier grâce à des marqueurs cliniques, biologiques, anatomopathologiques ou encore cytogénétiques afin de proposer à ces patients une prise en charge adaptée.

<b>Etude</b>	<b>Traitement</b>	<b>SG DH</b>	<b>SG SH/LBDGC</b>	<b>p</b>
<b>Johnson et al 2009</b> <sup>125</sup> N= 54	CHOP ± R	0,4 an/1,4 an	-	-
<b>Kanungo et al 2006</b> <sup>117</sup> N= 14	-	9 mois	-	-
<b>Le Guill et al 2007</b> <sup>118</sup> N= 16	Chimiothérapie standard/HD	5 mois	-	-
<b>Tomita et al 2009</b> <sup>121</sup> N= 27	CHOP ± R HD ± R	4 mois	-	-
<b>Snuderl et al 2010</b> <sup>16</sup> N= 20	CHOP ± R HD	4,5 mois	-	-
<b>Li et al 2012</b> <sup>111</sup> N= 52	-	18,6 mois	-	-
<b>Macpherson et al 1999</b> <sup>119</sup> N= 13	CHOP HD Traitement palliatif	2,5 mois	7/8 mois	< 0,001
<b>Niitsu et al 2009</b> <sup>120</sup> N= 19	CHOP R-CHOP HD	18 mois 23%*	65%/84%*	< 0,001
<b>Akyurek et al 2012</b> <sup>122</sup> N= 6	R-CHOP	9 mois 14%*	75%*	< 0,001
<b>Copie-bergman et al 2012</b> <sup>17</sup> N= 32	R-CHOP R-ACVBP	-	57,7%**	NS
<b>Pedersen et al 2012</b> <sup>123</sup> N= 17	R-CHOP	73%***	65%***	0,46
<b>Etude Tours</b> N= 9	R-CHOP R-HD	18,8 mois	50,4 mois	0,54

**Tableau 23:** Survie des patients arborant une double translocation, données de la littérature, comparaison avec la survie des patients présentant une translocation simple *C-MYC*. (\* : SG à 2 ans, \*\* : SG à 5 ans, \*\*\* : SG à 1 an, R : Rituximab, HD : High Dose, SH : Simple-hit, DH : Double-hit, p : valeur p de significativité statistique, NS : non significatif).

6) Traitement des lymphomes B avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB

La question de la meilleure prise en charge thérapeutique pour ce type de lymphome reste ouverte. De nombreuses études ont décrit les caractéristiques cliniques et cytogénétiques de ce type de lymphome, cependant la question du traitement n'était pas soulevée.<sup>12-15,111,116,117,119,121-123</sup> En effet, du fait du faible nombre de patients concernés, aucune étude prospective n'a pu être menée jusqu'à ce jour. La plupart des équipes médicales françaises, à l'heure actuelle, proposent pourtant à ces patients une chimiothérapie intensive en se basant empiriquement sur le caractère très agressif de ce type de lymphome. Les traitements utilisés sont donc ceux du LB à savoir de fortes doses de cyclophosphamide, du méthotrexate associées à des anthracyclines et à de la vincristine.

Cependant, la question de la toxicité est à soulever. En effet, ces protocoles de chimiothérapies ont principalement été étudiés chez des patients atteints de LB avec une moyenne d'âge plus faible (30 ans) et donc une tolérance acceptable. En revanche, nous savons que la population atteinte de lymphome B intermédiaire est plus âgée (50-65 ans) et a de ce fait plus de co-morbidités et plus de risque de toxicités.

L'étude de Le Gouill *et al.* en 2007 incluait 16 patients arborant une double translocation *C-MYC-BCL2*. Parmi eux, 7 recevaient une chimiothérapie de type COPADM, 3 bénéficiaient d'une intensification thérapeutique avec autogreffe de cellules souches périphériques et 2 d'une allogreffe de moelle osseuse. Malgré ces chimiothérapies intensives, les patients avaient une médiane de survie très faible (inférieure à 1 an).<sup>118</sup> L'équipe de Niitsu *et al.* a rapporté 19 patients "double-hit" traités par CHOP +/- R +/- MTX à fortes doses ou une chimiothérapie CycLOBEAP +/- R. Neuf patients avaient reçu du CycLOBEAP (dont 3 en association avec du R) et 3 patients avaient reçu du MTX à fortes doses. La survie globale de tous ces patients était inférieure à 2 ans.<sup>120</sup> Enfin, l'équipe de Snuderl *et al.* retrouvait également une survie très faible chez 20 patients "double-hit" (70 % étaient décédés à 8 mois) malgré un traitement intensif (CODOX-M/IVAC ou autogreffe de cellules souches périphériques) pour quelques cas (n=5).<sup>16</sup>

Ces 3 études décrivent un pronostic très péjoratif de ce type de lymphome, et cela malgré une intensification thérapeutique. Cependant le faible effectif des patients rend la comparaison avec une chimiothérapie standard difficile. Plus récemment deux études rétrospectives se sont posé spécifiquement la question de l'intensification thérapeutique dans les lymphomes B non classables avec des caractéristiques intermédiaires entre les LBDGC et le LB. La première incluait 52 patients dont 30 *C-MYC+* et 22 *C-MYC-*. Parmi les 30 *C-MYC+*, 19 recevaient une chimiothérapie intensive (18 R-hyper-CVAD, 1 CODOX) et 11 une chimiothérapie de type R-CHOP. Parmi les 22 *C-MYC-*, 13 recevaient une chimiothérapie intensive (11 R-hyper-CVAD, 2 CODOX) et 9 une chimiothérapie de type R-CHOP. Le suivi médian était de 995 jours. Il n'y avait pas de différence de survie globale entre

les patients *C-MYC*+ traités par R-CHOP ou R-chimiothérapie intensive, en revanche leur survie sans progression était significativement meilleure lorsqu'ils recevaient une chimiothérapie intensive ( $p=0,0358$ ). Dans le groupe sans translocation de *C-MYC*, il n'y avait aucune différence de SG et de SSP entre les 2 types de traitement.<sup>129</sup> La deuxième étude a récemment été rapportée au congrès de l'EHA 2013 (*European Hematology Association*) en poster par une équipe espagnole (Navarro *et al*). Vingt sept lymphomes présentant une translocation de *C-MYC* ont été inclus, 17 présentaient des critères anatomopathologiques de LBDGC et 10 de lymphome B non classable avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB. Le suivi médian était de 1 an. Seize patients étaient traités par du R-CHOP et les 11 autres par une chimiothérapie intensive. La survie globale et la survie sans progression à 2 ans n'était pas différente quel que soit le type de traitement (SG : 36% contre 52% ; SSP : 16% contre 31%). Cependant l'absence de significativité statistique entre ces survies pourrait être liée aux faibles effectifs.

Nous avons donc voulu, dans notre étude rétrospective, évaluer l'impact de l'utilisation des traitements intensifiés utilisés dans le LB dans notre centre hospitalier, sur la survie sans progression des patients atteints par ce type de lymphome.

Nous avons comparé les caractéristiques cliniques et biologiques au diagnostic des patients ayant reçu une chimiothérapie de type R-CHOP par rapport à ceux ayant reçu une chimiothérapie intensive. En dehors de la surexpression de Bcl-2, dont la valeur pronostique est discutable à l'ère du Rituximab dans les LBDGC<sup>26</sup>, nous n'avons pas retrouvé de différence significative entre ces 2 groupes.

Nous n'avons pas constaté de différence significative de survie globale et de survie sans progression entre les deux groupes. L'absence de différence de survie globale peut s'expliquer par le fait que cette étude était réalisée en intention de traiter et que les patients réfractaires ou en rechute après une chimiothérapie de type R-CHOP recevaient une chimiothérapie intensive. En revanche, il y a une tendance à une meilleure SSP dans le groupe de patients traité intensivement par rapport à une chimiothérapie standard (non atteinte dans le groupe traité intensivement contre 11,3 mois [7,9-14,8] ;  $p=0,06$ ). L'absence de différence significative est probablement secondaire à un effectif insuffisant. De plus, parmi les 26 patients traités par une chimiothérapie intensive, 11 n'ont pas reçu de Rituximab (8 d'entre eux avaient été diagnostiqués LB), or son intérêt a été démontré dans ces lymphomes.<sup>116</sup> En revanche, une réponse globale a été obtenue chez 65,9% des patients traités par une chimiothérapie intensive contre seulement 25% pour ceux ayant reçu une chimiothérapie standard ( $p=0,02$ ) et le taux de rechute est moins élevé (11,5% contre 41,7%,  $p=0,049$ ). Ces derniers résultats confortent donc l'idée d'un bénéfice du traitement intensif dans ce type de lymphome.

Dans notre étude, 3 des 26 patients traités par une chimiothérapie intensive sont décédés d'une infection alors que tous les décès dans le groupe de patients traité par R-CHOP étaient secondaires à

une évolution du lymphome. Parmi les patients ayant reçu une chimiothérapie intensive de type COPADM, une neutropénie de grade 4 est constatée au moins sur un cycle pour tous les patients avec pour 9 patients une aplasie fébrile et 1 patient un choc septique. Il est difficile de conclure sur ces résultats du fait du faible effectif de patients. De plus nous n'avons pas analysé de manière précise la toxicité induite par les différents protocoles de chimiothérapie. La toxicité de ce type de traitement est cependant bien décrite dans les études publiées dans le LB. Les principales toxicités sont hématologiques et infectieuses. Dans les protocoles LMB, B-NHL 83 et 86, le CODOX-M/IVAC ou encore l'hyper-CVAD, une neutropénie  $< 500/\text{mm}^3$  survenait dans 81 à 100% des cycles, des transfusions plaquettaires étaient nécessaires dans 35 à 71% des cycles et des infections sévères étaient rapportées chez 19 à 55% des patients.<sup>88,101</sup> Des infections fongiques, des toxicités cérébrales et des hémorragies cérébrales ont également été rapportées. Afin de minimiser ces toxicités, des facteurs de croissance granulocytaire en prévention primaire sont indiqués avec ce type de traitement bien que leur intérêt reste débattu.

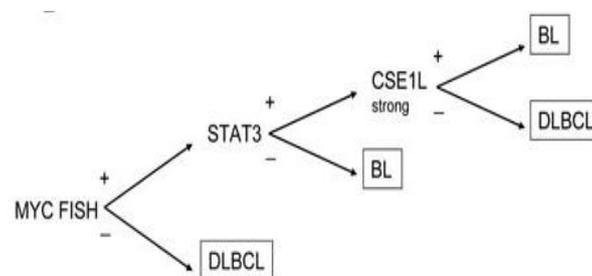
#### 7) Nouveautés

Plusieurs questions restent ouvertes concernant ce type de lymphome. Leur rareté et leur identification controversée (du fait de leur caractère « *borderline* ») rendent la réalisation d'études cliniques prospectives difficile. De plus, dans notre étude, bien que l'intensification de la chimiothérapie pour ces lymphomes semble leur conférer un avantage en survie sans progression, cette survie reste malgré tout très inférieure à celle des LBDGC tout-venant. Leur prise en charge thérapeutique est donc encore discutée et le développement de nouvelles molécules en association à une intensification thérapeutique pour ce type de lymphomes paraît très intéressant.

Afin de mieux identifier les tumeurs arborant une double translocation des gènes *CMYC-BCL2*, l'équipe de Li *et al.*<sup>144</sup> considère que tous les lymphomes agressifs diagnostiqués actuellement doivent bénéficier d'une analyse cytogénétique en FISH et que ceux n'ayant pas été analysés doivent l'être s'ils présentent des caractéristiques cliniques ou biologiques d'agressivité, un aspect anatomopathologique de ciel étoilé avec un index de prolifération élevé ou encore un antécédent de lymphopathie de bas grade.

Récemment l'équipe de Soldini *et al.* a publié un nouvel algorithme diagnostique afin de mieux discriminer les LB des LBDGC. Ils ont ainsi analysé l'expression en immunohistochimie de CSE1L (*Chromosome segregation 1-like*), d>ID3 (*Inhibitor of DNA binding-3*) et de STAT3 (*Signal transduction and transcription-3*) sur 242 échantillons de lymphome.<sup>138</sup> L'expression de CSE1L et d>ID3 était significativement associée au diagnostic de LB et l'expression de STAT3 au diagnostic de

LBDGC. Les auteurs proposent ainsi un nouvel algorithme diagnostique en utilisant l'expression immunohistochimique de CSE1L, de STAT3 et la présence d'une translocation de *C-MYC* en cytogénétique. Ce dernier permet également d'identifier les patients atteints de lymphomes B non classables avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB susceptibles de bénéficier d'une chimiothérapie intensive (Figure 25). En effet, 27 patients identifiés lymphomes intermédiaires ont été reclassés en fonction de cet algorithme, 6 cas anciennement diagnostiqués LBDGC ont été considérés LB et 2 cas diagnostiqués LB ont été reconsidérés LBDGC. Les patients considérés LB bénéficiaient d'une chimiothérapie intensive en terme de survie globale par rapport à une chimiothérapie de type R-CHOP ( $p=0.04$ ), et parmi les 6 patients initialement diagnostiqués LBDGC, 4 avaient un pronostic très défavorable. L'intérêt de ce travail portait donc sur l'identification des patients bénéficiant d'une chimiothérapie intensive (alors que d'autres avaient une évolution moins agressive). On pourrait ainsi imaginer une prise en charge individualisée pour ces patients.



**Figure 25:** Algorithme immunohistochimique pour les LB et les LBDGC basé sur l'expression de CSE1L, de STAT3 et sur la translocation de *C-MYC* <sup>138</sup>

Sur le plan thérapeutique, plusieurs nouvelles molécules paraissent intéressantes. Les oncoprotéines C-Myc (c-C-Myc, n-C-Myc, l-C-Myc) ont longtemps été considérées comme impossibles à cibler du fait de leur structure. Cependant, des études récentes sur la manipulation épigénétique du bromodomaine de la protéine BET BRD4 ont mis en évidence des résultats intéressants sur l'inhibition de C-Myc dans des modèles murins atteints de myélome multiple.<sup>139,140</sup> Ce bromodomaine protéique est en effet un co-facteur permettant la régulation épigénétique de C-Myc et cette approche indirecte altère l'expression du gène *C-MYC*. Un autre mécanisme par lequel la protéine C-Myc favorise la lymphomagenèse est la suppression de la transcription du gène Tristetrapolin (TTP), gène suppresseur de tumeur. Une expérience a en effet montré que la restauration de l'expression de ce gène permettait de diminuer la lymphomagenèse induite par C-Myc.<sup>141</sup> Une approche thérapeutique basée sur ce mécanisme reste à découvrir.

Des inhibiteurs de Bcl-2 ciblant leur domaine BH3 (*Bcl-2 homology*) ont également été développés et montrent des résultats prometteurs.<sup>83,84</sup> Gascoyne *et al.* avaient démontré que la surexpression de Bcl-2 était associée à un pronostic défavorable seulement dans les lymphomes arborant une translocation

t(14 ;18)<sup>7</sup> et bien qu'il ait été démontré que Bcl-2 était surexprimé dans les lymphomes GC et non-GC, le mécanisme à l'origine de cette surexpression n'était pas le même. La surexpression de Bcl-2 est secondaire à une t(14 ;18) dans les lymphomes GC alors qu'elle est liée à une surexpression des gènes cibles de NF-κB dans les lymphomes non-GC.<sup>39,40</sup> Dans ce dernier cas, la surexpression de Bcl-2 serait alors simplement un marqueur et non une cible thérapeutique pertinente. En revanche, il est probable qu'elle le soit dans les lymphomes GC et notamment dans les lymphomes B non classables avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB (principalement de phénotype GC). Un inhibiteur de Bcl-2, ABT-199, a donc été développé permettant, d'après les résultats préliminaires, de diminuer la croissance tumorale et d'induire une lyse tumorale dans les pathologies lymphoïdes B<sup>84</sup> mais également dans des souris transgéniques arborant une double translocation *C-MYC-BCL2*.<sup>142</sup> La combinaison de ces inhibiteurs avec des chimiothérapies standards paraît donc être une option thérapeutique intéressante. Enfin, une étude « *in vitro* » sur des cellules arborant une double translocation *C-MYC-BCL2* a démontré un effet synergique des inhibiteurs de Bcl-2 et des inhibiteurs de C-Myc sur la mort cellulaire.<sup>143</sup>

Le rôle du microenvironnement tumoral paraît également jouer un rôle important dans la lymphomagenèse. Dans ce sens, des thérapeutiques ont également été développées. Un anticorps monoclonal ciblant le CD137, exprimé sur des cellules immunitaires telles que les cellules NK (ayant un rôle dans la cytotoxicité dépendante de l'Anticorps ADCC provoqué par le Rituximab), a ainsi montré son efficacité anti-tumorale en association avec le Rituximab, permettant ainsi de potentialiser l'efficacité de ce dernier. Ces résultats supportent une nouvelle approche qui consiste à cibler non seulement la tumeur mais également son microenvironnement.

Toutes ces molécules sont à une phase de développement précoce et des études de phase II-III en association avec des chimiothérapies standards seront nécessaires afin d'évaluer leur efficacité et leur tolérance, et d'inscrire les nouvelles associations ainsi développées dans des arbres décisionnels thérapeutiques pertinents.

## CONCLUSION

Nous avons confirmé au cours de notre étude le caractère agressif de la nouvelle entité de l'OMS 2008 « lymphomes B non classables avec des caractéristiques intermédiaires entre le LB et le LBDGC ». Une meilleure identification de ces patients au diagnostic grâce à des bio-marqueurs fiables est donc cruciale. Des progrès sur les techniques cytogénétiques et immunohistochimiques restent à accomplir afin de standardiser leur diagnostic et leur prise en charge. Notre étude confirme que ces patients bénéficient d'une prise en charge différente des LBDGC avec une intensification thérapeutique qui augmente le taux de réponse et diminue le nombre de rechute. Ces résultats sont à confirmer sur une cohorte de patients plus importante et/ou dans le cadre d'une étude prospective. Il serait donc intéressant de poursuivre ce travail en recueillant les pratiques thérapeutiques pour ce type de lymphome dans d'autres centres hospitaliers. Une détermination précise des critères d'appartenance au groupe de lymphomes B non classables avec des caractéristiques intermédiaires entre le LBDGC et le LB sera un préalable indispensable à la réalisation d'une étude prospective testant une stratégie innovante, d'intensification avec ou sans nouvelle molécule candidate.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., Thiele J., Vardiman J.W. (Eds.): WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC: Lyon 2008
2. Hummel, M. *et al.* A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N. Engl. J. Med.* **354**, 2419–2430 (2006).
3. Cunningham, D. *et al.* Rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: a phase 3 comparison of dose intensification with 14-day versus 21-day cycles. *Lancet* **381**, 1817–1826 (2013).
4. A Predictive Model for Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *N. Engl. J. Med.* **329**, 987–994 (1993).
5. Lossos, I. S. *et al.* Expression of a single gene, BCL-6, strongly predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **98**, 945–951 (2001).
6. Van Imhoff, G. W. *et al.* Prognostic impact of germinal center-associated proteins and chromosomal breakpoints in poor-risk diffuse large B-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **24**, 4135–4142 (2006).
7. Gascoyne, R. D. *et al.* Prognostic Significance of Bcl-2 Protein Expression and Bcl-2 Gene Rearrangement in Diffuse Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *Blood* **90**, 244–251 (1997).
8. Copie-Bergman, C. *et al.* Immuno-fluorescence in situ hybridization index predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP: a GELA study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **27**, 5573–5579 (2009).
9. Kramer, M. H. *et al.* Clinical relevance of BCL2, BCL6, and MYC rearrangements in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **92**, 3152–3162 (1998).
10. Tang, S. C., Visser, L., Hepperle, B., Hanson, J. & Poppema, S. Clinical significance of bcl-2-MBR gene rearrangement and protein expression in diffuse large-cell non-Hodgkin's lymphoma: an analysis of 83 cases. *J. Clin. Oncol.* **12**, 149–154 (1994).
11. Hill, M. E. *et al.* Prognostic significance of BCL-2 expression and bcl-2 major breakpoint region rearrangement in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma: a British National Lymphoma Investigation Study. *Blood* **88**, 1046–1051 (1996).
12. Yoon, S. O. *et al.* MYC translocation and an increased copy number predict poor prognosis in adult diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), especially in germinal centre-like B cell (GCB) type. *Histopathology* **53**, 205–217 (2008).
13. Klapper, W. *et al.* Structural aberrations affecting the MYC locus indicate a poor prognosis independent of clinical risk factors in diffuse large B-cell lymphomas treated within randomized trials of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Leukemia* **22**, 2226–2229 (2008).
14. Barrans, S. *et al.* Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the era of rituximab. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **28**, 3360–3365 (2010).
15. Savage, K. J. *et al.* MYC gene rearrangements are associated with a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP chemotherapy. *Blood* **114**, 3533–3537 (2009).
16. Snuderl, M. *et al.* B-cell lymphomas with concurrent IGH-BCL2 and MYC rearrangements are aggressive neoplasms with clinical and pathologic features distinct from Burkitt lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.* **34**, 327–340 (2010).
17. Copie-Bergman, C. *et al.* MYC Gene Simple Hit Is a Strong Independent Predictive Factor of Survival in Diffuse Large B-Cell Lymphomas in Contrast to MYC Double-Hit Gene Alterations: A Study by the Groupe d'Etude Des Lymphomes De l'Adulte. *ASH Annu. Meet. Abstr.* **120**, 541 (2012).
18. Iqbal, J. *et al.* BCL2 expression is a prognostic marker for the activated B-cell-like type of diffuse large B-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **24**, 961–968 (2006).

19. Barrans, S. L. *et al.* The t(14;18) is associated with germinal center-derived diffuse large B-cell lymphoma and is a strong predictor of outcome. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **9**, 2133–2139 (2003).
20. Barrans, S. L. *et al.* Germinal center phenotype and bcl-2 expression combined with the International Prognostic Index improves patient risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **99**, 1136–1143 (2002).
21. Piris, M. A. *et al.* p53 and bcl-2 expression in high-grade B-cell lymphomas: correlation with survival time. *Br. J. Cancer* **69**, 337 (1994).
22. Wilson, W. H. *et al.* Relationship of p53, bcl-2, and Tumor Proliferation to Clinical Drug Resistance in Non-Hodgkin's Lymphomas. *Blood* **89**, 601–609 (1997).
23. Kramer, M. H. *et al.* Clinical significance of bcl2 and p53 protein expression in diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study. *J. Clin. Oncol.* **14**, 2131–2138 (1996).
24. 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).
25. Winter, J. N. *et al.* Prognostic significance of Bcl-6 protein expression in DLBCL treated with CHOP or R-CHOP: a prospective correlative study. *Blood* **107**, 4207–4213 (2006).
26. Mounier, N. *et al.* Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes bcl-2—associated resistance to chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Blood* **101**, 4279–4284 (2003).
27. Hermine, O. *et al.* Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). *Blood* **87**, 265–272 (1996).
28. Barrans, S. L. *et al.* Rearrangement of the BCL6 locus at 3q27 is an independent poor prognostic factor in nodal diffuse large B-cell lymphoma. *Br. J. Haematol.* **117**, 322–332 (2002).
29. Koduru, P. R. K. *et al.* Correlation Between Mutation in P53, p53 Expression, Cytogenetics, Histologic Type, and Survival in Patients With B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. *Blood* **90**, 4078–4091 (1997).
30. Zhang, A. *et al.* Prognostic clinicopathologic factors, including immunologic expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Pathol. Int.* **49**, 1043–1052 (1999).
31. Takeshita, M. *et al.* Histologic and immunohistologic findings and prognosis of 40 cases of gastric large B-cell lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.* **24**, 1641–1649 (2000).
32. Colomo, L. *et al.* Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **101**, 78–84 (2003).
33. Chang, C.-C., Cleveland, R. P. & Perkins, S. L. CD10 expression and survival. *Am. J. Clin. Pathol.* **117**, 660–661; author reply 661–662 (2002).
34. Ohshima, K. *et al.* CD10 and Bcl10 expression in diffuse large B-cell lymphoma: CD10 is a marker of improved prognosis. *Histopathology* **39**, 156–162 (2001).
35. Go, J. H., Yang, W. I. & Ree, H. J. CD10 Expression in Primary Intestinal Large B-Cell Lymphomas. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **126**, 956–960 (2002).
36. Linderöth, J., Jerkeman, M., Cavallin-Ståhl, E., Kvaløy, S. & Torlakovic, E. Immunohistochemical Expression of CD23 and CD40 May Identify Prognostically Favorable Subgroups of Diffuse Large B-cell Lymphoma A Nordic Lymphoma Group Study. *Clin. Cancer Res.* **9**, 722–728 (2003).
37. Berglund, M. *et al.* Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. *Mod. Pathol.* **18**, 1113–1120 (2005).
38. Natkunam, Y. *et al.* LMO2 protein expression predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with anthracycline-based chemotherapy with and without rituximab. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **26**, 447–454 (2008).
39. Alizadeh, A. A. *et al.* Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* **403**, 503–511 (2000).
40. Rosenwald, A. *et al.* The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N. Engl. J. Med.* **346**, 1937–1947 (2002).
41. Tagawa, H. *et al.* Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **106**, 1770–1777 (2005).

42. Shipp, M. A. *et al.* Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. *Nat. Med.* **8**, 68–74 (2002).
43. Nyman, H. *et al.* Prognostic impact of immunohistochemically defined germinal center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with immunochemotherapy. *Blood* **109**, 4930–4935 (2007).
44. Choi, W. W. L. *et al.* A new immunostain algorithm classifies diffuse large B-cell lymphoma into molecular subtypes with high accuracy. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **15**, 5494–5502 (2009).
45. Muris, J. J. F. *et al.* Immunohistochemical profiling based on Bcl-2, CD10 and MUM1 expression improves risk stratification in patients with primary nodal diffuse large B cell lymphoma. *J. Pathol.* **208**, 714–723 (2006).
46. Meyer, P. N. *et al.* Immunohistochemical methods for predicting cell of origin and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **29**, 200–207 (2011).
47. Ott, G. *et al.* Immunoblastic morphology but not the immunohistochemical GCB/nonGCB classifier predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma in the RICOVER-60 trial of the DSHNHL. *Blood* **116**, 4916–4925 (2010).
48. Salles, G. *et al.* Prognostic significance of immunohistochemical biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma: a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *Blood* **117**, 7070–7078 (2011).
49. Gutiérrez-García, G. *et al.* Gene-expression profiling and not immunophenotypic algorithms predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Blood* **117**, 4836–4843 (2011).
50. Küppers, R. & Dalla-Favera, R. Mechanisms of chromosomal translocations in B cell lymphomas. *Oncogene* **20**, 5580–5594 (2001).
51. Grønbaek, K. *et al.* Somatic Fas mutations in non-Hodgkin's lymphoma: association with extranodal disease and autoimmunity. *Blood* **92**, 3018–3024 (1998).
52. Grønbaek, K. *et al.* ATM mutations are associated with inactivation of the ARF-TP53 tumor suppressor pathway in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **100**, 1430–1437 (2002).
53. Lossos, I. S. Molecular pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **23**, 6351–6357 (2005).
54. Ichikawa, A. *et al.* Mutations of the p53 Gene as a Prognostic Factor in Aggressive B-Cell Lymphoma. *N. Engl. J. Med.* **337**, 529–534 (1997).
55. Osada, M. *et al.* Influence of p53 mutation on pathological grade, but not prognosis of non-Hodgkin's lymphoma. *Anticancer. Drug Des.* **14**, 107–114 (1999).
56. Parekh, S. *et al.* BCL6 programs lymphoma cells for survival and differentiation through distinct biochemical mechanisms. *Blood* **110**, 2067–2074 (2007).
57. Houldsworth, J. *et al.* REL proto-oncogene is frequently amplified in extranodal diffuse large cell lymphoma. *Blood* **87**, 25–29 (1996).
58. Nakahara, Y. *et al.* Mutational analysis of the PTEN/MMAC1 gene in non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* **12**, 1277–1280 (1998).
59. Davis, R. E., Brown, K. D., Siebenlist, U. & Staudt, L. M. Constitutive nuclear factor kappaB activity is required for survival of activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J. Exp. Med.* **194**, 1861–1874 (2001).
60. Davis, R. E. *et al.* Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature* **463**, 88–92 (2010).
61. Kato, M. *et al.* Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas. *Nature* **459**, 712–716 (2009).
62. Lenz, G. *et al.* Oncogenic CARD11 mutations in human diffuse large B cell lymphoma. *Science* **319**, 1676–1679 (2008).
63. Ngo, V. N. *et al.* A loss-of-function RNA interference screen for molecular targets in cancer. *Nature* **441**, 106–110 (2006).
64. Ngo, V. N. *et al.* Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. *Nature* **470**, 115–119 (2011).

65. Pfreundschuh, M. *et al.* CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol.* **7**, 379–391 (2006).
66. Coiffier, B. *et al.* CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N. Engl. J. Med.* **346**, 235–242 (2002).
67. Feugier, P. *et al.* Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **23**, 4117–4126 (2005).
68. Récher, C. *et al.* Intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab versus standard CHOP plus rituximab for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma (LNH03-2B): an open-label randomised phase 3 trial. *Lancet* **378**, 1858–1867 (2011).
69. Milpied, N. *et al.* Initial treatment of aggressive lymphoma with high-dose chemotherapy and autologous stem-cell support. *N. Engl. J. Med.* **350**, 1287–1295 (2004).
70. Haioun, C. *et al.* [18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography (FDG-PET) in aggressive lymphoma: an early prognostic tool for predicting patient outcome. *Blood* **106**, 1376–1381 (2005).
71. Milpied, N.-J. *et al.* No Benefit of First-Line Rituximab (R) - High-Dose Therapy (R-HDT) Over R-CHOP14 for Young Adults with Diffuse Large B-Cell Lymphoma. Preliminary Results of the GOELAMS 075 Prospective Multicentre Randomized Trial. *ASH Annu. Meet. Abstr.* **116**, 685 (2010).
72. Delarue, R. *et al.* R-CHOP14 Compared to R-CHOP21 in Elderly Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Results of the Interim Analysis of the LNH03-6B GELA Study. *ASH Annu. Meet. Abstr.* **114**, 406 (2009).
73. Pfreundschuh, M. *et al.* Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive CD20+ B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60). *Lancet Oncol.* **9**, 105–116 (2008).
74. Phan, R. T., Saito, M., Basso, K., Niu, H. & Dalla-Favera, R. BCL6 interacts with the transcription factor Miz-1 to suppress the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 and cell cycle arrest in germinal center B cells. *Nat. Immunol.* **6**, 1054–1060 (2005).
75. Klapproth, K. & Wirth, T. Advances in the understanding of MYC-induced lymphomagenesis. *Br. J. Haematol.* **149**, 484–497 (2010).
76. Schuster, C. *et al.* The cooperating mutation or 'second hit' determines the immunologic visibility toward MYC-induced murine lymphomas. *Blood* **118**, 4635–4645 (2011).
77. Kurosu, T., Fukuda, T., Miki, T. & Miura, O. BCL6 overexpression prevents increase in reactive oxygen species and inhibits apoptosis induced by chemotherapeutic reagents in B-cell lymphoma cells. *Oncogene* **22**, 4459–4468 (2003).
78. Pfreundschuh, M. *et al.* Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of elderly patients with aggressive lymphomas: results of the NHL-B2 trial of the DSHNHL. *Blood* **104**, 634–641 (2004).
79. Pfreundschuh, M. *et al.* Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of young patients with good-prognosis (normal LDH) aggressive lymphomas: results of the NHL-B1 trial of the DSHNHL. *Blood* **104**, 626–633 (2004).
80. Dunleavy, K. *et al.* The role of tumor histogenesis, FDG-PET, and short-course EPOCH with dose-dense rituximab (SC-EPOCH-RR) in HIV-associated diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **115**, 3017–3024 (2010).
81. Wilson, W. H. *et al.* A Cancer and Leukemia Group B multi-center study of DA-EPOCH-rituximab in untreated diffuse large B-cell lymphoma with analysis of outcome by molecular subtype. *Haematologica* **97**, 758–765 (2012).
82. Dunleavy, K. *et al.* Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **113**, 6069–6076 (2009).
83. Wilson, W. H. *et al.* Navitoclax, a targeted high-affinity inhibitor of BCL-2, in lymphoid malignancies: a phase 1 dose-escalation study of safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and antitumour activity. *Lancet Oncol.* **11**, 1149–1159 (2010).

84. Souers, A. J. *et al.* ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets. *Nat. Med.* **19**, 202–208 (2013).
85. BURKITT, D. A sarcoma involving the jaws in African children. *Br. J. Surg.* **46**, 218–223 (1958).
86. Blum, K. A., Lozanski, G. & Byrd, J. C. Adult Burkitt leukemia and lymphoma. *Blood* **104**, 3009–3020 (2004).
87. Dave, S. S. *et al.* Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N. Engl. J. Med.* **354**, 2431–2442 (2006).
88. Thomas, D. A. *et al.* Hyper-CVAD program in Burkitt's-type adult acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **17**, 2461–2470 (1999).
89. Mead, G. M. *et al.* An international evaluation of CODOX-M and CODOX-M alternating with IVAC in adult Burkitt's lymphoma: results of United Kingdom Lymphoma Group LY06 study. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol. ESMO* **13**, 1264–1274 (2002).
90. Nelson, M. *et al.* An increased frequency of 13q deletions detected by fluorescence in situ hybridization and its impact on survival in children and adolescents with Burkitt lymphoma: results from the Children's Oncology Group study CCG-5961. *Br. J. Haematol.* **148**, 600–610 (2010).
91. Dang, C. V. *et al.* The c-Myc target gene network. *Semin. Cancer Biol.* **16**, 253–264 (2006).
92. Hecht, J. L. & Aster, J. C. Molecular biology of Burkitt's lymphoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **18**, 3707–3721 (2000).
93. Boxer, L. M. & Dang, C. V. Translocations involving c-myc and c-myc function. *Oncogene* **20**, 5595–5610 (2001).
94. EPSTEIN, M. A., ACHONG, B. G. & BARR, Y. M. VIRUS PARTICLES IN CULTURED LYMPHOBLASTS FROM BURKITT'S LYMPHOMA. *Lancet* **1**, 702–703 (1964).
95. Neri, A. *et al.* Epstein-Barr virus infection precedes clonal expansion in Burkitt's and acquired immunodeficiency syndrome-associated lymphoma. *Blood* **77**, 1092–1095 (1991).
96. Kamranvar, S. A., Gruhne, B., Szeles, A. & Masucci, M. G. Epstein-Barr virus promotes genomic instability in Burkitt's lymphoma. *Oncogene* **26**, 5115–5123 (2007).
97. Kelly, G. L. *et al.* An Epstein-Barr virus anti-apoptotic protein constitutively expressed in transformed cells and implicated in burkitt lymphomagenesis: the Wp/BHRF1 link. *PLoS Pathog.* **5**, e1000341 (2009).
98. Paschos, K. *et al.* Epstein-barr virus latency in B cells leads to epigenetic repression and CpG methylation of the tumour suppressor gene Bim. *PLoS Pathog.* **5**, e1000492 (2009).
99. Ramiro, A. R. *et al.* AID is required for c-myc/IgH chromosome translocations in vivo. *Cell* **118**, 431–438 (2004).
100. Diviné, M. *et al.* Burkitt lymphoma in adults: a prospective study of 72 patients treated with an adapted pediatric LMB protocol. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol. ESMO* **16**, 1928–1935 (2005).
101. Hoelzer, D. *et al.* Improved outcome in adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* **87**, 495–508 (1996).
102. Lee, E. J. *et al.* Brief-duration high-intensity chemotherapy for patients with small noncleaved-cell lymphoma or FAB L3 acute lymphocytic leukemia: results of cancer and leukemia group B study 9251. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **19**, 4014–4022 (2001).
103. Thomas, D. A. *et al.* Chemoimmunotherapy with hyper-CVAD plus rituximab for the treatment of adult Burkitt and Burkitt-type lymphoma or acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* **106**, 1569–1580 (2006).
104. Hoelzer, D. *et al.* Substantially Improved Outcome of Adult Burkitt Non-Hodgkin Lymphoma and Leukemia Patients with Rituximab and a Short-Intensive Chemotherapy; Report of a Large Prospective Multicenter Trial. *ASH Annu. Meet. Abstr.* **120**, 667 (2012).
105. Ribrag, V. *et al.* Addition of Rituximab Improves Outcome of HIV Negative Patients with Burkitt Lymphoma Treated with the Lmba Protocol: Results of the Randomized Intergroup (GRAALL-Lysa) LMBA02 Protocol. (IGR sponsored LMBA02, NCT00180882). *ASH Annu. Meet. Abstr.* **120**, 685 (2012).

106. Intermesoli, T. *et al.* High Cure Rates in Burkitt Leukemia and Lymphoma: NILG Study of the German Short Intensive Rituximab-Chemotherapy Program. *ASH Annu. Meet. Abstr.* **120**, 1494 (2012).
107. Obermann, E. C., Csato, M., Dirnhofer, S. & Tzankov, A. Aberrations of the MYC gene in unselected cases of diffuse large B-cell lymphoma are rare and unpredictable by morphological or immunohistochemical assessment. *J. Clin. Pathol.* **62**, 754–756 (2009).
108. Tibiletti, M. G. *et al.* BCL2, BCL6, MYC, MALT 1, and BCL10 rearrangements in nodal diffuse large B-cell lymphomas: a multicenter evaluation of a new set of fluorescent in situ hybridization probes and correlation with clinical outcome. *Hum. Pathol.* **40**, 645–652 (2009).
109. Aukema, S. M. *et al.* Double-hit B-cell lymphomas. *Blood* **117**, 2319–2331 (2011).
110. Campo, E. *et al.* The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood* **117**, 5019–5032 (2011).
111. Li, S. *et al.* B-cell lymphomas with MYC/8q24 rearrangements and IGH@BCL2/t(14;18)(q32;q21): an aggressive disease with heterogeneous histology, germinal center B-cell immunophenotype and poor outcome. *Mod. Pathol. Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc* **25**, 145–156 (2012).
112. Jaffe, E. S. & Pittaluga, S. Aggressive B-Cell Lymphomas: A Review of New and Old Entities in the WHO Classification. *ASH Educ. Program Book* **2011**, 506–514 (2011).
113. Bellan, C., Stefano, L., Giulia, D. F., Rogena, E. A. & Lorenzo, L. Burkitt lymphoma versus diffuse large B-cell lymphoma: a practical approach. *Hematol. Oncol.* **28**, 53–56 (2010).
114. Bertrand, P. *et al.* Mapping of MYC breakpoints in 8q24 rearrangements involving non-immunoglobulin partners in B-cell lymphomas. *Leukemia* **21**, 515–523 (2007).
115. Pedersen, M. O. *et al.* MYC Translocation Partner Gene Determines Survival in Large B-Cell Lymphoma with MYC- or Double Hit MYC/BCL2 Translocation. *ASH Annu. Meet. Abstr.* **120**, 542 (2012).
116. Johnson, N. A. *et al.* Lymphomas with concurrent BCL2 and MYC translocations: the critical factors associated with survival. *Blood* **114**, 2273–2279 (2009).
117. Kanungo, A., Medeiros, L. J., Abruzzo, L. V. & Lin, P. Lymphoid neoplasms associated with concurrent t(14;18) and 8q24/c-MYC translocation generally have a poor prognosis. *Mod. Pathol. Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc* **19**, 25–33 (2006).
118. Le Gouill, S. *et al.* The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(14;18) and 8q24/c-MYC rearrangement. *Haematologica* **92**, 1335–1342 (2007).
119. Macpherson, N. *et al.* Small noncleaved, non-Burkitt's (Burkit-Like) lymphoma: cytogenetics predict outcome and reflect clinical presentation. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **17**, 1558–1567 (1999).
120. Niitsu, N., Okamoto, M., Miura, I. & Hirano, M. Clinical features and prognosis of de novo diffuse large B-cell lymphoma with t(14;18) and 8q24/c-MYC translocations. *Leukemia* **23**, 777–783 (2009).
121. Tomita, N. *et al.* Clinicopathological features of lymphoma/leukemia patients carrying both BCL2 and MYC translocations. *Haematologica* **94**, 935–943 (2009).
122. Akyurek, N., Uner, A., Benekli, M. & Barista, I. Prognostic significance of MYC, BCL2, and BCL6 rearrangements in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone plus rituximab. *Cancer* **118**, 4173–4183 (2012).
123. Pedersen, M. Ø. *et al.* Double-hit BCL2/MYC translocations in a consecutive cohort of patients with large B-cell lymphoma - a single centre's experience. *Eur. J. Haematol.* **89**, 63–71 (2012).
124. Gurel, B. *et al.* Nuclear MYC protein overexpression is an early alteration in human prostate carcinogenesis. *Mod. Pathol. Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc* **21**, 1156–1167 (2008).
125. Johnson, N. A. *et al.* Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **30**, 3452–3459 (2012).
126. Green, T. M. *et al.* Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide,

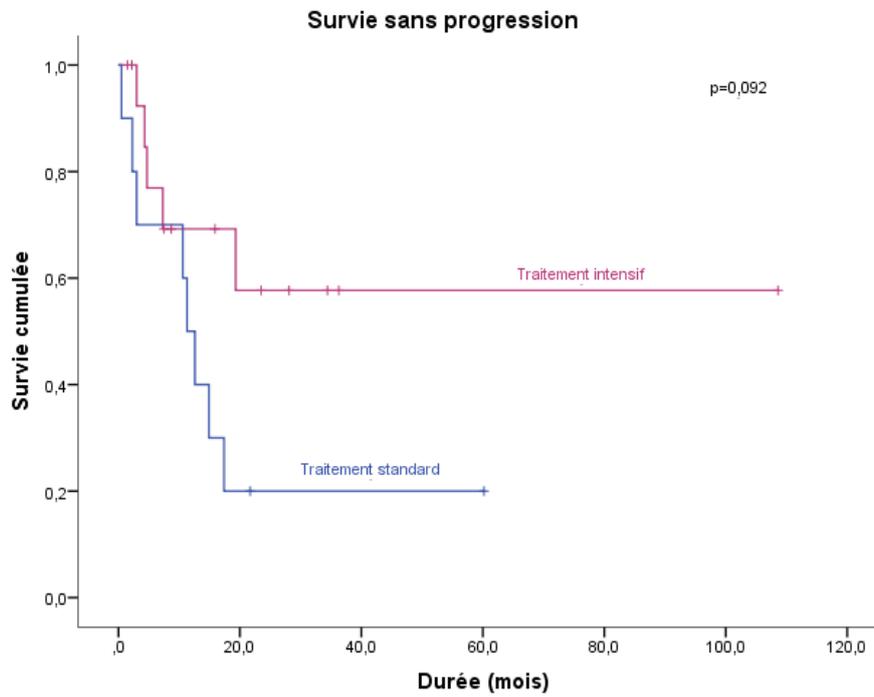
- doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **30**, 3460–3467 (2012).
127. Kluk, M. J. *et al.* Immunohistochemical detection of MYC-driven diffuse large B-cell lymphomas. *PLoS One* **7**, e33813 (2012).
128. Horn, H. *et al.* MYC status in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **121**, 2253–2263 (2013).
129. Lin, P. *et al.* Prognostic value of MYC rearrangement in cases of B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma. *Cancer* **118**, 1566–1573 (2012).
130. Cuccuini, W. *et al.* MYC+ diffuse large B-cell lymphoma is not salvaged by classical R-ICE or R-DHAP followed by BEAM plus autologous stem cell transplantation. *Blood* **119**, 4619–4624 (2012).
131. Dunleavy, K. *et al.* MYC+ Aggressive B-cell lymphomas: novel therapy of untreated Burkitt lymphoma (BL) and MYC + diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) with DA-EPOCH-R. *Ann Oncol* **22**, (Suppl 4), abstract 071 (2011).
132. Boerma, E. G., Siebert, R., Kluin, P. M. & Baudis, M. Translocations involving 8q24 in Burkitt lymphoma and other malignant lymphomas: a historical review of cytogenetics in the light of today's knowledge. *Leukemia* **23**, 225–234 (2009).
133. Lenz, G. *et al.* Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas. *N. Engl. J. Med.* **359**, 2313–2323 (2008).
134. Molina, T. J. *et al.* Germinal Center Phenotype Determined by Immunohistochemistry on Tissue Microarray Does Not Correlate with Outcome in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Patients Treated with Immunochemotherapy in the Randomized Trial LNH98-5. A GELA Study. *ASH Annu. Meet. Abstr.* **110**, 51 (2007).
135. De Jong, D. *et al.* Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as a prerequisite for broad clinical applications--a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **25**, 805–812 (2007).
136. Carbone, A., Glohini, A., Aiello, A., Testi, A. & Cabras, A. B-cell lymphomas with features intermediate between distinct pathologic entities. From pathogenesis to pathology. *Hum. Pathol.* **41**, 621–631 (2010).
137. Valera, A. *et al.* MYC protein expression and genetic alterations have prognostic impact in diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Haematologica* (2013). doi:10.3324/haematol.2013.086173
138. Soldini, D. *et al.* A new diagnostic algorithm for Burkitt and diffuse large B-cell lymphomas based on the expression of CSE1L and STAT3 and on MYC rearrangement predicts outcome. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol. ESMO* **24**, 193–201 (2013).
139. Delmore, J. E. *et al.* BET bromodomain inhibition as a therapeutic strategy to target c-Myc. *Cell* **146**, 904–917 (2011).
140. Chesi, M. *et al.* Drug response in a genetically engineered mouse model of multiple myeloma is predictive of clinical efficacy. *Blood* **120**, 376–385 (2012).
141. Rounbehler, R. J. *et al.* Tristetraprolin impairs myc-induced lymphoma and abolishes the malignant state. *Cell* **150**, 563–574 (2012).
142. Vandenberg, C. J. & Cory, S. ABT-199, a new Bcl-2-specific BH3 mimetic, has in vivo efficacy against aggressive Myc-driven mouse lymphomas without provoking thrombocytopenia. *Blood* **121**, 2285–2288 (2013).
143. Sasaki, N. *et al.* Bcl-2 is a better therapeutic target than c-Myc, but attacking both could be a more effective treatment strategy for B-cell lymphoma with concurrent Bcl-2 and c-Myc overexpression. *Exp. Hematol.* **39**, 817–828.e1 (2011).
144. Li, S. *et al.* MYC/BCL2 Double-Hit High grade B-cell Lymphoma. *Adv Anat Pathol.* **20**, 315–326 (2013).

## ANNEXES

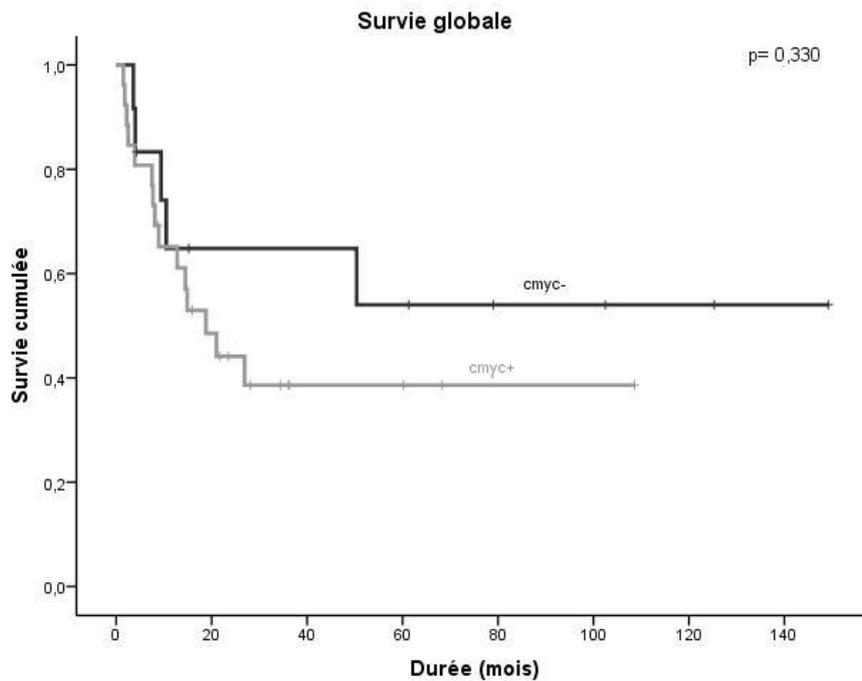
**Annexe 1 :** Comparaison des caractéristiques cliniques, biologiques et immunohistochimiques des patients présentant une double translocation et une simple translocation.

	DH (n=9)	SH (n=17)	Test de Fischer
<b>Age médian (ans)</b>	69 [45-80]	48 [21-79]	
<b>Age &gt; 65 ans</b>	6 (67%)	4 (23,5%)	p= 0,04
<b>Sexe (F/M)</b>	3/6	5/12	
<b>PS</b>			
0	2 (22%)	2 (12%)	
1	5 (55,5%)	6 (35%)	
2	1 (11%)	7 (41%)	
3	1 (11%)	2 (12%)	
4	0	0	
<b>PS≥2</b>	2 (22%)	9 (53%)	p= 0,138
<b>Stade Ann Arbor</b>			
1	1 (11%)	1 (6%)	
2	1 (11%)	2 (12%)	
3	1 (11%)	2 (12%)	
4	6 (67%)	12 (71%)	
<b>Stade ≥ 3</b>	7 (78%)	14 (82%)	p= 0,58
<b>IPI</b>			
0	0	2 (12%)	
1	2 (22%)	1 (6%)	
2	1 (11%)	5 (29%)	
3	1 (11%)	5 (29%)	
4	4 (44%)	2 (12%)	
5	1 (11%)	2 (12%)	
<b>IPI≥3</b>	6 (67%)	9 (53%)	p= 0,4
<b>Atteinte SNC</b>	2 (22%)	1 (6%)	p= 0,27
<b>Atteinte osseuse</b>	2 (22%)	1 (6%)	p= 0,27
<b>BOM envahie</b>	5 (55%)	6 (35%)	p= 0,28
<b>LDH médian (UI/L)</b>	958 [299-9186]	1128 [300-5915]	
<b>LDH &gt; N</b>	8 (89%)	15 (88%)	p= 0,73
<b>LDH &gt; 2N</b>	6 (67%)	12 (71%)	p= 0,59
<b>Nombre localisations extra nodales&gt;1</b>	1 (11%)	9 (53%)	p= 0,045
<b>CD10</b>	5/7 (71%)	9/16 (56%)	p= 0,42
<b>Bcl6</b>	5/5 (100%)	8/10 (80%)	p= 0,43
<b>Bcl2</b>	6/6 (100%)	9/16 (56%)	p= 0,067
<b>Mib-1 &gt;90%</b>	2/5 (40%)	8/11 (73%)	p= 0,24
<b>Mib-1 &gt;95%</b>	2/5 (40%)	5/11 (45%)	p= 0,63
<b>Profil GC</b>	5/5 (100%)	10/15 (67%)	p= 0,19

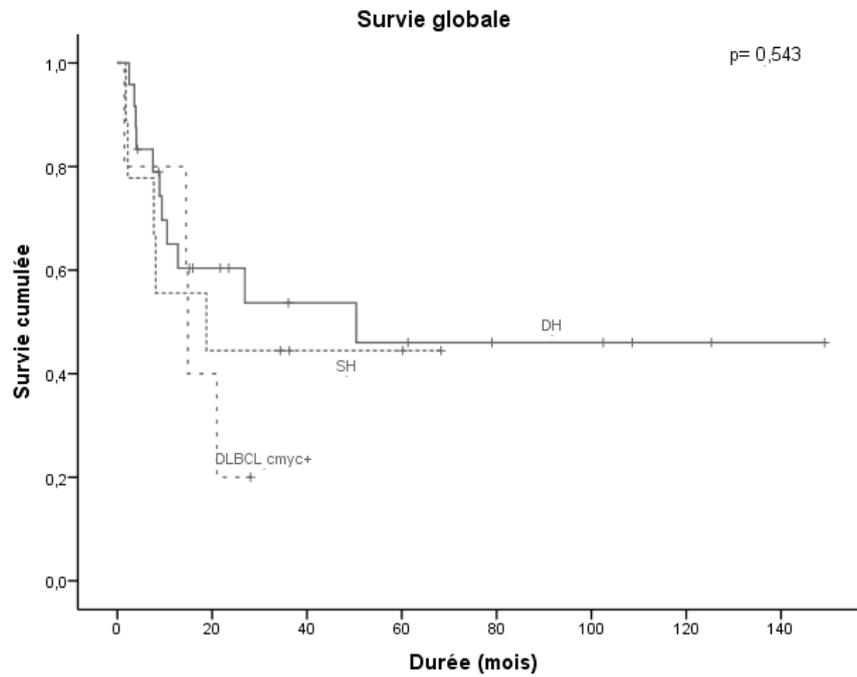
**Annexe 2 :** Survie sans progression des patients arborant une translocation de *C-MYC* en fonction du traitement reçu.



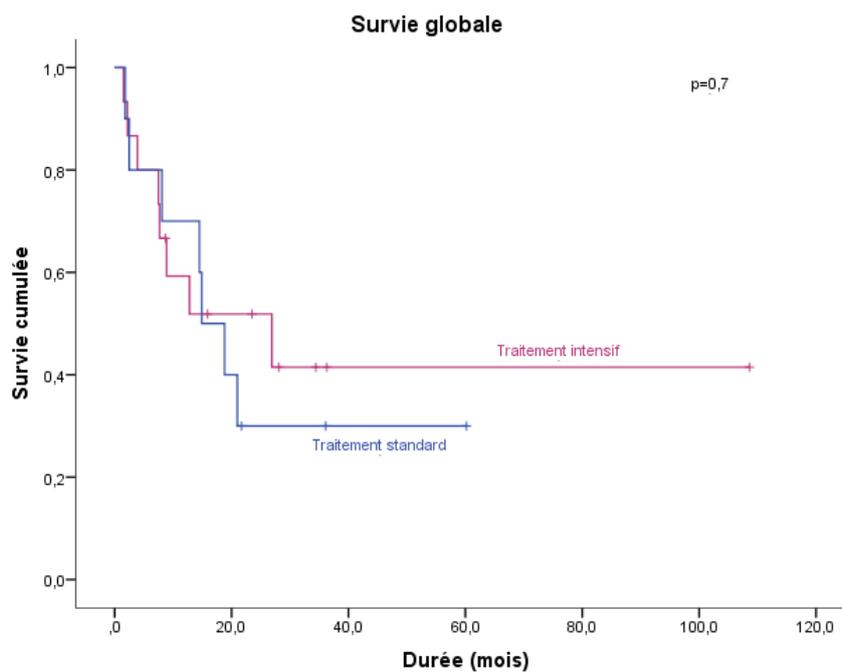
**Annexe 3 :** Survie globale des patients en fonction du caractère *C-MYC*.



**Annexe 4 :** Survie globale des patients en fonction du caractère « *simple-hit* », « *double-hit* » ou LBDGC *C-MYC*.



**Annexe 5 :** Survie globale des patients arborant une translocation de *C-MYC* en fonction du traitement reçu.



## Faculté de Médecine de TOURS

OCHMANN Marlène

Thèse n°

Lymphomes B non classables avec des caractéristiques intermédiaires entre le lymphome B diffus à grandes cellules et le lymphome de Burkitt : Evaluation rétrospective des caractéristiques cliniques et impact de l'intensification thérapeutique.

80 pages – 23 tableaux – 25 figures

**Résumé :** La nouvelle classification OMS 2008 a défini une nouvelle entité nommée « lymphome B non classable avec des caractéristiques intermédiaires entre le lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC) et le lymphome de Burkitt ». Ces lymphomes présentent diverses caractéristiques morphologiques, immunophénotypiques et cytogénétiques avec des translocations du gène *C-MYC*. Plusieurs questions restent en suspens concernant cette entité notamment leur pronostic et l'impact des traitements intensifiés.

Nous avons réalisé une étude rétrospective et inclus 38 patients du Centre Hospitalier Universitaire de Tours et de Clermont Ferrand traités par une chimiothérapie standard ou intensive. Quarante huit patients ont été inclus dans un groupe contrôle LBDGC.

Les patients avec un diagnostic de lymphome B intermédiaire se présentent initialement avec une forme clinique plus agressive et notamment un IPI plus élevé ( $\geq 3$ ) par rapport aux LBDGC (55,3% contre 37,5%,  $p=0,08$ ). Ils présentent plus fréquemment un profil GC (79,3% contre 54,8%,  $p=0,04$ ). La médiane de survie sans progression est de 19,3 mois [3,9-36,4] dans les lymphomes B intermédiaires et non atteinte dans les LBDGC ( $p=0,001$ ). Il y a une tendance à une meilleure survie sans progression dans le groupe de patients ayant reçu une intensification thérapeutique (non atteinte contre 11,3 mois [7,9-14,8] ( $p=0,06$ )). Une réponse globale est obtenue chez 65,9% des patients traités par une chimiothérapie intensive contre seulement 25% pour les autres ( $p=0,02$ ) et le taux de rechute est significativement moins élevé chez ces patients (11,5% contre 41,7%,  $p=0,049$ ).

Cette étude confirme le pronostic défavorable de ce type de lymphome. Par ailleurs, les patients présentant des caractéristiques intermédiaires semblent bénéficier d'une prise en charge thérapeutique différente et notamment d'une intensification thérapeutique.

**Mots clés :** Lymphomes B non classable avec des caractéristiques intermédiaires entre le lymphome B diffus à grandes cellules et le lymphome de Burkitt, translocation du gène *C-MYC*, double translocation *C-MYC-BCL2*, chimiothérapie intensive.

**Jury :**

Président de jury : **Monsieur le Professeur Philippe COLOMBAT**  
Membres du jury : **Madame le Docteur Flavie ARBION**  
**Madame le Professeur Christiane COPIE-BERGMAN**  
**Madame le Dr Caroline DARTIGEAS**  
**Monsieur le Docteur Emmanuel GYAN**  
**Monsieur le Professeur Thierry LAMY DE LA CHAPELLE**

**Date de la soutenance :** 3 octobre 2013