



Année 2016/2017

N°

## Thèse

Pour le

### DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

par

**Laurianne DRIEU LA ROCHELLE**

Né(e) le 27/04/1986 à Paris 14<sup>ème</sup> (75)

---

#### TITRE

Étude monocentrique rétrospective d'une cohorte de Lymphome B Diffus à Grandes Cellules double-hit : Prise en charge du diagnostic au traitement.

---

Présentée et soutenue publiquement le 26/09/2017 devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Philippe COLOMBAT, Hématologie-Transfusion, Faculté de Médecine -Tours

Membres du Jury :

Professeur Emmanuel GYAN, Hématologie-Transfusion, Faculté de Médecine - Tours

Professeur Olivier HERAULT, Hématologie-Transfusion, Faculté de Médecine – Tours

Docteur Marjan ERTAULT DE LA BRETONNIERE, Hématologie-Transfusion, PH, CHRU - Tours

Docteur Flavie ARBION, Anatomie et cytologie pathologiques, PH, CHRU -Tours

Directeur de thèse : Docteur Marjan ERTAULT DE LA BRETONNIERE, Hématologie-Transfusion, PH, CHRU - Tours

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS

FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

**DOYEN**

Pr. Patrice DIOT

**VICE-DOYEN**

Pr. Henri MARRET

**ASSESEURS**

Pr. Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*  
Pr. Mathias BUCHLER, *Relations internationales*  
Pr. Hubert LARDY, *Moyens – relations avec l'Université*  
Pr. Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale*  
Pr. François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*  
Pr. Patrick VOURC'H, *Recherche*

**SECRETAIRE GENERALE**

Mme Fanny BOBLETER

\*\*\*\*\*

**DOYENS HONORAIRES**

Pr. Emile ARON (†) – 1962-1966  
*Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962*  
Pr. Georges DESBUQUOIS (†)- 1966-1972  
Pr. André GOUAZE - 1972-1994  
Pr. Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004  
Pr. Dominique PERROTIN – 2004-2014

**PROFESSEURS EMERITES**

Pr. Catherine BARTHELEMY  
Pr. Philippe BOUGNOUX  
Pr. Etienne DANQUECHIN-DORVAL  
Pr. Loïc DE LA LANDE DE CALAN  
Pr. Noël HUTEN  
Pr. Olivier LE FLOCH  
Pr. Yvon LEBRANCHU  
Pr. Elisabeth LECA  
Pr. Gérard LORETTE  
Pr. Roland QUENTIN  
Pr. Alain ROBIER

**PROFESSEURS HONORAIRES**

P. ANTHONIOZ – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – G. BALLON – P. BARDOS – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – P. BONNET – M. BROCHIER – P. BURDIN – L. CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUAZE – J.L. GUILMOT – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – J. LANSAC – Y. LANSON – J. LAUGIER – P. LECOMTE – G. LELORD – E. LEMARIE – G. LEROY – Y. LHUINTRE – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAINÉ – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – M. ROBERT – J.C. ROLLAND – A. SAINDELLE – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – B. TOUMIEUX – J. WEILL

ALISON Daniel .....	Radiologie et imagerie médicale
ANDRES Christian.....	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis .....	Cardiologie
ANGOULVANT Théodora.....	Pharmacologie clinique
ARBEILLE Philippe .....	Biophysique et médecine nucléaire
AUPART Michel.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique .....	Cardiologie
BALLON Nicolas.....	Psychiatrie ; addictologie
BARILLOT Isabelle .....	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe.....	Immunologie
BERNARD Louis .....	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BODY Gilles.....	Gynécologie et obstétrique
BONNARD Christian.....	Chirurgie infantile
BONNET-BRILHAULT Frédérique .....	Physiologie
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, mycologie
CHANTEPIE Alain .....	Pédiatrie
COLOMBAT Philippe .....	Hématologie, transfusion
CONSTANS Thierry.....	Médecine interne, gériatrie
CORCIA Philippe .....	Neurologie
COSNAY Pierre .....	Cardiologie
COTTIER Jean-Philippe .....	Radiologie et imagerie médicale
COUET Charles .....	Nutrition
DE TOFFOL Bertrand .....	Neurologie
DEQUIN Pierre-François .....	Thérapeutique
DESTRIEUX Christophe.....	Anatomie
DIOT Patrice .....	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague .....	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri.....	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
DUMONT Pascal .....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan .....	Réanimation
FAUCHIER Laurent .....	Cardiologie
FAVARD Luc.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUQUET Bernard.....	Médecine physique et de réadaptation
FRANCOIS Patrick .....	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle.....	Anatomie & cytologie pathologiques
GOGA Dominique .....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
GOUDEAU Alain.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe .....	Rhumatologie
GRUEL Yves.....	Hématologie, transfusion
GUERIF Fabrice .....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUYETANT Serge.....	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel.....	Hématologie, transfusion
HAILLOT Olivier.....	Urologie
HALIMI Jean-Michel.....	Thérapeutique
HANKARD Régis .....	Pédiatrie
HERAULT Olivier .....	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis .....	Radiologie et imagerie médicale
LABARTHE François .....	Pédiatrie
LAFFON Marc .....	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert .....	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd .....	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique .....	Bactériologie-virologie
LAURE Boris .....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry .....	Gastroentérologie, hépatologie
LESCANNE Emmanuel .....	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude.....	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent.....	Dermato-vénéréologie

MAILLOT François.....	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain.....	Pneumologie
MARRET Henri.....	Gynécologie-obstétrique
MARJANI Annabel.....	Dermatologie-vénéréologie
MEREGHETTI Laurent.....	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MORINIERE Sylvain.....	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa.....	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis.....	Rhumatologie
ODENT Thierry.....	Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi.....	Chirurgie digestive
PAGES Jean-Christophe.....	Biochimie et biologie moléculaire
PAINTAUD Gilles.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric.....	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Dominique.....	Réanimation médicale, médecine d'urgence
PERROTIN Franck.....	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean.....	Ophthalmologie
QUENTIN Roland.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
REMERAND Francis.....	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe.....	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
ROYERE Dominique.....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
RUSCH Emmanuel.....	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline.....	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem.....	Chirurgie digestive
SALIBA Elie.....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
SANTIAGO-RIBEIRO Maria.....	Biophysique et médecine nucléaire
SIRINELLI Dominique.....	Radiologie et imagerie médicale
THOMAS-CASTELNAU Pierre.....	Pédiatrie
TOUTAIN Annick.....	Génétique
VAILLANT Loïc.....	Dermato-vénéréologie
VELUT Stéphane.....	Anatomie
VOURC'H Patrick.....	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé.....	Immunologie

## PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

---

LEBEAU Jean-Pierre  
LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie

## PROFESSEURS ASSOCIES

---

MALLET Donatien.....Soins palliatifs  
POTIER Alain.....Médecine Générale  
ROBERT Jean.....Médecine Générale

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

---

BAKHOS David.....Physiologie  
BARBIER Louise.....Chirurgie digestive  
BERNARD-BRUNET Anne.....Cardiologie  
BERTRAND Philippe.....Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication  
BLANCHARD Emmanuelle.....Biologie cellulaire  
BLASCO Hélène.....Biochimie et biologie moléculaire  
CAILLE Agnès.....Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication  
DESOUBEAUX Guillaume.....Parasitologie et mycologie  
DOMELIER Anne-Sophie.....Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière  
DUFOUR Diane.....Biophysique et médecine nucléaire  
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie.....Anatomie et cytologie pathologiques  
GATAULT Philippe.....Néphrologie  
GAUDY-GRAFFIN Catherine.....Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière  
GOUILLEUX Valérie.....Immunologie  
GUILLON Antoine.....Réanimation  
GUILLON-GRAMMATICO Leslie.....Epidémiologie, économie de la santé et prévention  
HOARAU Cyrille.....Immunologie

HOURIOUX Christophe .....	Biologie cellulaire
IVANES Fabrice .....	Physiologie
LE GUELLEC Chantal .....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
MACHET Marie-Christine .....	Anatomie et cytologie pathologiques
PIVER Éric .....	Biochimie et biologie moléculaire
ROUMY Jérôme .....	Biophysique et médecine nucléaire
PLANTIER Laurent .....	Physiologie
SAMIMI Mahtab .....	Dermatologie-vénéréologie
TERNANT David .....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
ZEMMOURA Ilyess .....	Neurochirurgie

## **MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES**

---

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia .....	Neurosciences
DIBAO-DINA Clarisse .....	Médecine Générale
LEMOINE Maël .....	Philosophie
MONJAUZE Cécile .....	Sciences du langage - orthophonie
PATIENT Romuald .....	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile .....	Médecine Générale

## **CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA**

---

BOUAKAZ Ayache .....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
CHALON Sylvie .....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
COURTY Yves .....	Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
DE ROCQUIGNY Hugues .....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
ESCOFFRE Jean-Michel .....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
GILOT Philippe .....	Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GOUILLEUX Fabrice .....	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
GOMOT Marie .....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
HEUZE-VOURCH Nathalie .....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
KORKMAZ Brice .....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
LAUMONNIER Frédéric .....	Chargé de Recherche INSERM - UMR INSERM 930
LE PAPE Alain .....	Directeur de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
MAZURIER Frédéric .....	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
MEUNIER Jean-Christophe .....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
PAGET Christophe .....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
RAOUL William .....	Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
SI TAHAR Mustapha .....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
WARDAK Claire .....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930

## **CHARGES D'ENSEIGNEMENT**

---

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

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

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

LALA Emmanuelle .....	Praticien Hospitalier
MAJZOUB Samuel .....	Praticien Hospitalier

### ***Pour l'Ethique Médicale***

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

## RESUME

La révision de 2016 de la classification OMS des lymphomes définit une nouvelle entité de lymphomes agressifs intitulés lymphomes de haut grade avec translocation impliquant les gènes *MYC-BCL2* et/ou *BCL6* (aussi appelés lymphomes « double-hit »), représentant moins de 10% des lymphomes B diffus à grandes cellules (LBDGC). Ces lymphomes sont agressifs et nécessitent des traitements intensifs. Des questions persistent concernant la stratégie pour diagnostiquer ces lymphomes et l'impact des thérapeutiques intensives sur la survie des patients. Notre étude rétrospective réalisée sur le centre hospitalier universitaire de Tours de 2012 à 2015 a inclus au total 42 patients dont : 9 patients avec LBDGC « double-hit » traités de manière intensive, 4 patients avec LBDGC avec double expression de *MYC-BCL2* et 29 patients LBDGL, NOS *de novo* de stade  $\geq$ II, âgés de moins de 70 ans. Les patients avec lymphomes double-hit ont une présentation initiale comparable à celle des patients LBDGC NOS : 22% présentent un *performans status*  $\geq$ 2 (contre 14%) ; 89% ont un stade III et IV (contre 86%) ; 56% présentent au moins deux localisations extra-ganglionnaires (contre 55%) ; 100% ont un taux de LDH élevés (contre 83%) ; 89% ont un score IPI élevé (contre 62%). Nous avons observé que les lymphomes double-hit étaient plus fréquemment de type GC (89% contre 43%). 89% des patients double-hit ont reçu un traitement intensif contre 17% dans le groupe LBDGC, NOS, et 6 patients ont été autogreffés. Sur une durée médiane de suivi de 22 mois [5-58], 3 patients ont rechuté, dont une rechute neuro-méningée, et 11 sont décédés. Leur survie globale à 2 ans est plus courte : 53% pour les lymphomes double-hit, 50% pour les lymphomes double-expresser contre 84% chez les patients LBDGC, NOS ( $p=0.052$ ). Cette étude confirme d'une part la rareté de ces lymphomes et d'autre part leur mauvais pronostic. Afin de définir les facteurs prédictifs des lymphomes double-hit et pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques il serait nécessaire d'envisager de réaliser des études prospectives incluant un plus grand nombre de patients.

**Mots clés :** lymphome B diffus à grandes cellules, réarrangement *MYC*, réarrangement *BCL2*, réarrangement *BCL6*, double-hit, chimiothérapie intensive

## ABSTRACT

The 2016 revision of the WHO classification of lymphomas has included a new category of lymphoma, termed High grade B-cell lymphoma with translocations involving *MYC* and *BCL2* or *BCL6* (also referred to as "double-hit" lymphomas), occurring in less than 10% of patients with diffuse large B cell lymphoma (DLBCL). They are aggressive and require intensive treatment. Some questions remain about the diagnostic strategy to identify these lymphomas and the impact of intensive therapies on the survival of these patients. Our retrospective study at the University Hospital of Tours from 2012 to 2015 have included a total of 42 patients, including 9 intensively treated LBDGC "double-hit" patients, 4 patients with LBDGC with double expression of *MYC* and *BCL2* and as a comparator group, 29 LBDGL, de novo NOS patients from stage II to IV, aged less than 70 years. Patients with double-hit lymphoma have an initial presentation comparable to DLBCL, NOS; 22% have a *performans status*  $\geq 2$  (versus 14%); 89% are stage III and IV (versus 86%); 56% have at least two extranodal sites (versus 55%); 100% have high LDH levels (versus. 83%) and 89% have a high PI score (versus 62%). Double-hit lymphomas were more frequently from the GC-type (89% versus 43%). 89% of double-hit patients received intensive treatment compared with 17% in DLBCL, NOS, and 6 patients received an autologous stem cell transfusion. The median follow-up was 22 months [5-58], 3 patients relapsed, including one cerebral relapse, and 11 patients died. The overall survival at 2 years is shorter for double-hit lymphomas (53%), and for double-expressor lymphomas (50%) compared to LBDGC, NOS patients (84%,  $p = 0.052$ ). This study confirms that "double-hit" lymphomas are rare and have a poor prognosis. In conclusion, future larger and prospective cohorts are needed to define predictive factors and new therapeutic strategies for the management of this lymphoma entity.

**Keywords:** Diffuse Large B Cell Lymphoma, rearrangement *MYC*, rearrangement *BCL2*, rearrangement *BCL6*, double hit, intensive chemotherapy

# 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 Monsieur le Professeur Colombat, mon Président de thèse,  
Merci d'avoir accepté de présider mon jury et de juger mon travail. Merci pour votre accueil chaleureux et bienveillant lors de mon arrivée dans votre service. Je vous remercie pour vos enseignements, votre encadrement dans le service et de m'avoir partagé votre vision participative de la médecine et de l'hématologie.

A Monsieur le Professeur Gyan,  
Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury et de juger mon travail. Merci pour tes encouragements, débriefing, tes conseils et de ton écoute au cours de mon internat. Merci pour ta disponibilité, pour ton enthousiasme et ton optimisme.

A Monsieur le Professeur Hérault,  
Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury et de juger mon travail. Merci pour votre accueil au sein du laboratoire d'hématologie biologie et de l'opportunité de découvrir le stress oxydatif.

A madame le Docteur Arbion,  
Merci pour la collaboration pour ce projet, merci d'avoir accepté d'être dans mon jury et de juger mon travail. Merci pour ton accueil lors de mon semestre en anapath, les comptes-rendus conjoints (j'en suis très fière !).

A madame le docteur Hammouche,  
Merci pour ta collaboration, ta disponibilité et pour les visites en cytogénétique.

A madame le Docteur Ertault de la Bretonnière,  
Marjan ! Merci d'avoir accepté de me diriger pour ma thèse. Pour ces semestres passés à tes côtés. Merci pour tes encouragements, ta patience et ta bienveillance. A toutes ces heures et ces mails échangés !

Merci à Caroline pour ta présence stimulante, à Irène et à Daniel pour le plaisir d'avoir travaillé avec vous. Et à toute l'équipe paramédicale du service d'hématologie de Tours. C'est un plaisir de travailler à vos côtés, dans les bons jours, comme les jours « ça passe pas ! » sur le tableau.

Merci à toute l'équipe de réanimation médicale de Bretonneau pour ce semestre intensif. Merci à Adeline, Sophie, Guillaume, Walid, Geoffroy, Osamah et Romain, vous avez été des co-internes d'exception.

Merci à tout le service d'Oncologie médicale pour ce semestre à vos côtés.

Merci au Service d'anatomie et cytologie pathologiques du Pr Fromont de Bretonneau. Merci à toute l'équipe pour votre accueil et vos explications. Merci à Bérengère, ma co-interne en thèse (maintenant je comprends ce que tu vivais) ! Merci à Armelle coloc de bureau, prêteuse de calculette (merci à Augustin de sa générosité !), prêteuse de code secret et conseillère en statistique !

Merci à tout le service d'hématologie d'Orléans. Merci à Magda, Diana, Martine, Nina et Omar.

Merci à toute l'équipe de soins palliatifs de Luynes et de l'UMASP. Merci pour ce stage enrichissant et fondateur pour le médecin que j'essaie de devenir. Merci à Donatien, Nolwenn et Valérie. Merci à toutes les infirmières, aides-soignantes et l'assistante sociale ! Merci pour votre au revoir.

Merci au Pr Ifrah et au Pr Hunault de m'avoir accueilli dans le service des Maladies du Sang d'Angers. Merci à Sylvie, Mélanie et Sylvain pour tout ce que vous m'avez appris. Merci à Marie, Pierre, Nicolas et Christophe pour ces soirées angevines ! Merci à toute l'équipe des infirmier(e)s et soignant(e)s de l'unité HARVEY.

Merci à tout le service d'Hématologie de Bretonneau. A Amélie, Noémie, Claire et Gauvin , aux techniciens. Merci de votre soutien dans le stress de ces derniers mois !

Merci aux castelroussines, Héléna, Mathilde et Julie D., pour ce premier semestre d'anthologie. On ne pouvait pas rêver mieux pour débiter ! Bon courage aux 2 dernières pour leur thèse !

Merci à tous mes co-internes au cours de ces 5 années d'internat : Mathilde, Yonathan, Fanny et Jeanne, Julie F., Marion, Nathaniel, Nicolas, Romain, Jean-Baptiste et Martin.

A tous mes amis, en particulier, Mathilde, Julie, Aliénor, Amélie, Guillemette, Maëva Elodie, François et Laurent. Merci pour tous les moments partagés et à venir.

Merci à Emilie et Nicolas pour les soirées mojito et le renforcement positif sur ces 6 derniers mois !

A Laure, Marine, Sophie et Ophélie pour ces souvenirs d'externat à Rennes.

Merci à toute la famille ! Merci pour vos encouragements, votre soutien sur toutes ces années, ces souvenirs de vacances.

Merci à Guillaume, merci à mon petit frère d'avoir ouvert la voie des thèses, ça met pas du tout la pression !

Merci à Armand, pour tous ces souvenirs de révision, de colloq. A cette séance de lancers de truelle qui mérite d'être dans Le Guinness des records.

A Sophie, ma petite sœur, pour ton amitié, tes encouragements, ta compréhension et tout le reste !

A mes parents, sans qui tout ça n'aurait pas été possible. Merci pour votre soutien tout au long de ces années et ces derniers mois. Et bien plus encore.

A Myriam et Dominique-Jean, qui êtes parti si tôt.

*Je dédie cette thèse à ma Grand-mère Josette,  
première des femmes médecins de la famille*

## TABLE DES MATIERES

<b>TABLE DES FIGURES</b> .....	15
<b>TABLE DES TABLEAUX</b> .....	16
<b>TABLE DES ANNEXES</b> .....	16
<b>ABRÉVIATIONS</b> .....	17
<b>1 INTRODUCTION</b> .....	20
1.1 Généralités.....	20
1.2 Lymphomagénèse des LBDGC .....	20
1.3 LBDGC.....	24
1.3.1 Définition, épidémiologie, description, bilan diagnostic .....	24
1.3.2 Diagnostics .....	25
1.3.2.1 Diagnostic histologique .....	25
1.3.2.2 Diagnostic phénotypique .....	25
1.3.2.3 Diagnostic cytogénétique.....	26
1.3.3 Traitement .....	27
1.3.4 Facteurs pronostiques .....	28
1.3.4.1 Pronostic clinique.....	28
1.3.4.2 Pronostic phénotypique .....	30
1.3.4.3 Pronostic immuno-histochimique .....	32
1.3.4.4 Pronostic cytogénétique .....	32
1.3.4.5 Complexification des LBDGC.....	32
1.4 LBDGC double-triple hit.....	35
1.4.1 Définition, Epidémiologie.....	35
1.4.2 Description clinique et histologique.....	35
1.4.3 Traitement .....	36
1.4.4 Gènes impliqués dans les réarrangements.....	36
1.4.4.1 Gène <i>MYC</i> .....	36
1.4.4.2 Gène <i>BCL2</i> .....	41
1.4.4.3 Gène <i>BCL6</i> .....	41
1.4.5 Objectif de l'étude .....	42
<b>2 Matériels et Méthodes</b> .....	43
2.1 Méthodologie de l'étude .....	43
2.1.1 Méthodologie .....	43
2.1.2 Objectif principal.....	44
2.1.3 Objectif secondaire.....	44
2.2 Sélection des Patients .....	44
2.2.1 Critères d'inclusion .....	44

2.2.2	Critères d'exclusion.....	45
2.3	Ethique.....	46
2.4	Caractéristiques .....	46
2.4.1	Données cliniques .....	46
2.4.2	Données histologiques et cytogénétiques .....	46
2.4.3	Données immunohistochimiques .....	46
2.4.4	Données cytogénétiques .....	47
2.5	Traitements reçus et réponse au traitement .....	48
2.5.1	Traitements reçus .....	48
2.5.2	Evaluation de la réponse thérapeutique.....	49
2.6	Analyse statistique .....	49
3	RESULTATS .....	51
3.1	Caractéristiques des groupes .....	51
3.1.1	Identification des groupes .....	51
3.1.2	Caractéristiques cliniques et biologiques lors du diagnostic .....	54
3.1.3	Caractéristiques anatomo-pathologiques lors du diagnostic .....	56
3.1.4	Caractéristiques cytogénétiques lors du diagnostic .....	58
3.2	Traitements et réponses aux traitements.....	58
3.2.1	Traitements et réponse de 1 <sup>ère</sup> ligne .....	58
3.2.2	Prise en charge des patients en réponse partielle .....	61
3.2.3	Prise en charge de rechute et réfractaire.....	62
3.2.4	Mortalité et toxicité .....	64
3.3	Survie globale des patients .....	65
3.3.1	Survie globale des patients selon les groupes .....	65
3.3.2	Survie globale selon les caractéristiques cliniques et biologiques.....	67
3.3.3	Survie globale selon les caractéristiques anatomopathologiques et cytogénétiques.....	67
3.3.4	Survie globale selon les traitements et réponses aux traitements.....	67
3.4	Etude de survie sans progression en univarié.....	70
3.4.1	Survie sans progression selon les groupes .....	70
3.4.2	Survie sans progression selon les caractéristiques cliniques et biologiques .....	70
3.4.3	Survie sans progression selon les caractéristiques anatomopathologiques et cytogénétiques.....	70
3.4.4	Survie sans progression selon traitement et réponse .....	70
4	DISCUSSION .....	72
4.1	Présentation au diagnostic .....	72
4.1.1	Caractéristiques clinico-biologiques au diagnostic .....	72
4.1.2	Caractéristiques histologiques.....	77

4.1.3	Caractéristiques immuno-histochimiques .....	80
4.2	Choix du dépistage des lymphomes double-hit en partant des double-expresser ...	82
4.3	Double hit : partenaire .....	84
4.4	Survie et facteurs pronostics.....	86
4.4.1	Survie selon les caractéristiques cliniques .....	86
4.4.2	Survie selon les caractéristiques histologique et immunohistochimique .....	87
4.4.3	Survie selon les caractéristiques cytogénétiques.....	88
4.5	Traitements .....	90
4.6	Autogreffe.....	92
5	CONCLUSION .....	94
	ANNEXES .....	95

## TABLE DES FIGURES

Figure 1: Illustration des modifications dans le centre germinatif lors de la lymphopoïèse B .	21
Figure 2: Illustration des mécanismes de lymphomagenèse dans le LBDGC .....	22
Figure 3: Voies oncogéniques selon le sous-type de LBDGC .....	23
Figure 4: Coupes anatomo-pathologiques des 3 sous-types de LBDGC .....	25
Figure 5: Classification des LBDGC selon l'algorithme de Hans .....	26
Figure 6: Survie globale selon l'IPI et selon le R-IPI de patients avec LBDGC traités par R-CHOP .....	29
Figure 7: Stratification de courbe de survie selon le score NCCN-IPI (A) et le score IPI (B) pour LBDGC .....	30
Figure 8: Profil d'expression génique selon les différents sous-type de LBDGC .....	31
Figure 9: Courbe de survie selon le sous-type GC, ABC et type 3 par GEP .....	31
Figure 10: Relation entre LBDGC, lymphoma B intermédiaire, Lymphome de Burkitt, Lymphome co-expresser et lymphoma double-hit .....	33
Figure 11: Approche diagnostique des lymphomes B de haut grade.....	34
Figure 12: LBDGC et MYC .....	35
Figure 13: Schéma illustrant les fonctions de MYC .....	37
Figure 14: Niveau d'expression de la protéine MYC au cours de la différenciation lymphocytaire B et dans les hémopathies correspondantes .....	39
Figure 15: Flow chart : sélection des patients : première partie.....	52
Figure 16: Flow chart : sélection des patients deuxième partie .....	53
Figure 17 : Détail des traitements reçus .....	63
Figure 18 Survie globale et survie sans progression selon les groupes .....	66
Figure 19: Survies selon l'obtention d'une réponse complète en première ligne en analyse univarié (log rank).....	68

## **TABLE DES TABLEAUX**

Tableau 1: Survie globale de patients avec LBDGC traités par R-CHOP selon IPI et R-IPI..	29
Tableau 2: Hétérogénéité des différents mécanismes altérant MYC dans les hémopathies ...	40
Tableau 3: Caractéristiques cliniques et biologiques des patients au diagnostic .....	55
Tableau 4: Caractéristiques histologiques et cytogénétiques au diagnostic.....	57
Tableau 5: Détail des traitements intensifs et standards de première ligne .....	59
Tableau 6: Détail du traitement par autogreffe .....	60
Tableau 7: Réponse obtenue à l'issue de la première ligne selon le type de traitement .....	61
Tableau 8: Analyse de survie globale et sans progression en univarié selon les groupes.....	65
Tableau 9: Survie globale et survie sans progression selon les caractéristiques.....	69

## **TABLE DES ANNEXES**

Annexe 1: Classification d'Ann Arbor .....	95
Annexe 2: Echelle du performans status .....	96
Annexe 3: Classification OMS 2008 des hémopathies B matures .....	97
Annexe 4: Classification OMS 2016 des hémopathies B matures.....	97



## ABRÉVIATIONS

**ABC** : *Activated B-cell*

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

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ARN** : Acide ribonucléique

**ATM** : *Ataxia Telangiectasia Mutated*

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

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

**BCLU** : *B-cell lymphoma unclassified*

**BCR** : *B cell receptor*

**BEAM** : Carmustine, Etoposide, Aracytine, Melphalan

**BOM** : Biopsie ostéo-médullaire

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

**CD** : Cluster de différenciation

**CEEP** : Cyclophosphamide, Vindésine, Epirubicine, Prednisone

**CEP** : Cyclophosphamide, Etoposide, Prednisone

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

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

**COEP** : Cyclophosphamide, Vincristine, Etoposide, Prednisone

**COP** : Cyclophosphamide, Vincristine, Prednisone

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

**CSP** : Cellules Souches Périphériques

**CVAD** : Cyclophosphamide, Vincristine, Doxorubicine, Méthotrexate, Cytarabine

**CYVE** : Aracytine, Etoposide

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

**DEL** : *Double Expressor Lymphoma*

**DHAP** : Aracytine, Cisplatine, Dexaméthasone

**DHT** : *Double-hit*

**EBV** : *Epstein Barr Virus*

**EREC** : Espace de Réflexion Ethique de la région Centre

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

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

**GC**: *Germinal Center*

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

**GEMOX** : Gemcitabine ; Oxaliplatine

**GEP**: *Genic Expression Profil*

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

**ICE** : Ifosfamide, Carboplatine, Etoposide

**IE** : , Ifosfamide Etoposide

**IG** : Immunoglobuline

**IGH** : Gène des chaînes lourdes des Immunoglobulines

**IHC** : Immunohistochimie

**IPI** : Index Pronostic International

**IPI-aa** : IPI ajusté à l'âge

**IVAC** : Ifosphamide, Etoposide, Aracytine

**LB** : Lymphome de Burkitt

**LBDGC** : Lymphome B Diffus à Grandes Cellules

**LEAM** : Bendamustine, Etoposide, Aracytine, Melphalan

**LLC** : Leucémie Lymphoïde Chronique

**LNH** : lymphome non hodgkinien

**MALT** : Mucosa-associated lymphoid tissue

**MBVP** : Méthotrexate, Vincristine, Procarbazine

**MP** : Maladie progressive

**MS** : Maladie stable

**MTX** : Méthotrexate

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

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

**NGS**: *Next Generation Sequencing*

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PS** : *Performans Status*

**RC** : Réponse complète

**RCP** : Réunion de Concertation Pluridisciplinaire

**RP** : Réponse partielle

**SG** : Survie globale

**SNC** : Système nerveux central

**SSP** : Survie sans progression

**TBRP** : Très Bonne Réponse Partielle

**TDM** : TomoDensitoMétrie

**TEP** : Tomographie par émission de positons

**VHB** : Virus de l'Hépatite B

**VHC** : Virus de l'Hépatite C

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

# 1 INTRODUCTION

## 1.1 Généralités

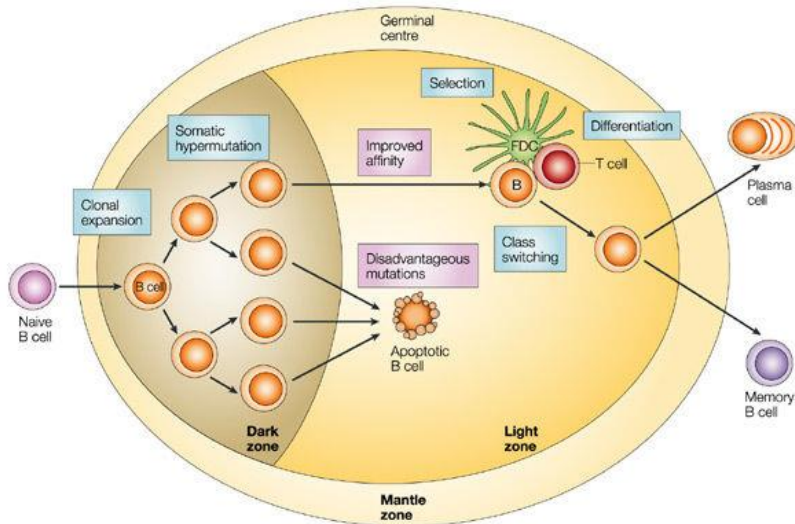
Les lymphomes sont issus de la prolifération clonale de cellules lymphoïdes B, T ou NK. L'acquisition d'un évènement oncogénique à un stade de leur différenciation peut conduire à une dérégulation des signaux de prolifération ou d'apoptose, conduisant à une expansion clonale. Les lymphomes B agressifs sont constitués de plusieurs entités dont le lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC), le lymphome de Burkitt (LB) et le lymphome lymphoblastique. La classification de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) individualise ces différentes entités selon leurs caractéristiques diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques. Les LBDGC forment un groupe hétérogène en agressivité, pronostic et survie. La classification OMS 2008 a identifié une forme plus agressive de lymphome de la zone grise ou « burkitt-like », intitulée lymphome B inclassable avec des caractéristiques intermédiaires entre les LBDGC et lymphome de Burkitt (BCLU). Dans la révision de la classification OMS 2016, la notion de double-hit est introduite comme lymphome de haut grade au sein des LBDGC.

A la suite de cette mise à jour, il nous a semblé intéressant d'étudier dans notre centre hospitalier la prise en charge diagnostique et thérapeutique de ces lymphomes.

## 1.2 Lymphomagénèse des LBDGC

### Rappels sur la lymphopoïèse B

Les lymphocytes B sont produits dans la moelle osseuse et mûrissent dans les organes lymphoïdes secondaires que sont les ganglions, la rate et les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses. Ils acquièrent les antigènes de différenciation (CD : cluster de différenciation) signant leur engagement dans la lignée B. Ils subissent plusieurs remaniements géniques : la recombinaison des gènes des immunoglobulines (Ig) qui a lieu dans la moelle osseuse, d'hypermutation somatique (correspondant à des mutations ponctuelles), commutation isotypique.



Nature Reviews | Immunology

Figure 1: Illustration des modifications dans le centre germinatif lors de la lymphopoïèse B<sup>1</sup>

## La lymphomagenèse

Les différents remaniements géniques tels la recombinaison V(D)J, l'hypermutation somatique et la commutation isotypique, bien que nécessaires à la lymphopoïèse, peuvent être des événements transformant impliqués dans la lymphomagenèse<sup>1</sup>.

Selon le point de cassure retrouvé, il est possible de déterminer à quel moment ces anomalies sont survenues. La translocation d'un gène impliqué dans le développement du lymphocyte B avec un des 3 loci des gènes Ig est à l'origine de la dérégulation transcriptionnelle de ce dernier. Cette dérégulation entraîne une surexpression de ce gène ou une expression ectopique de gènes normalement éteints à ce stade de maturation.

Dans le LBDGC, les principaux gènes impliqués dans une translocation avec un gène Ig sont *BCL2*, *BCL6* et *MYC*. Néanmoins, dans les LBDGC, l'hypermutation somatique aberrante contribue à la lymphomagenèse en impliquant d'autres gènes dont *PAX5*, *BCL6*, *MYC*, et *PIM-1*. La figure 2 illustre les différentes voies oncogéniques dans le LBDGC<sup>2</sup>.

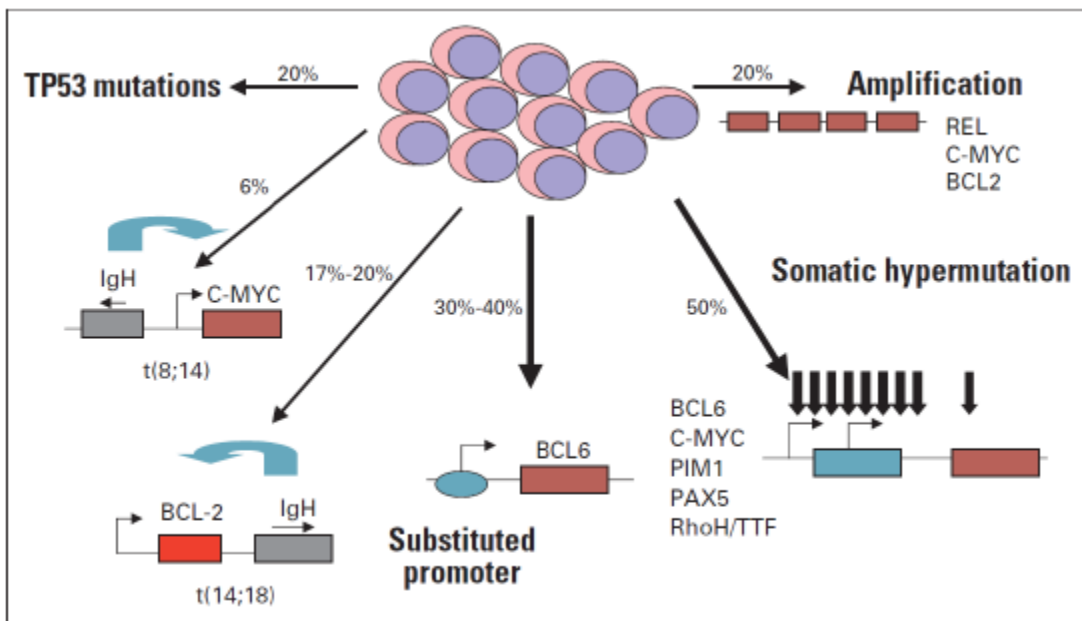


Figure 2: Illustration des mécanismes de lymphomagenèse dans le LBDGC (Lossos, 2005)

Des mutations somatiques simples peuvent toucher des gènes suppresseurs de tumeurs *TP53*, des gènes initiant la réparation cellulaire (*ATM*) ou encore des amplifications géniques (*REL*, *BCL2*, *MYC*).

Des mutations inactivatrices de gènes tels que *CD95* (codant pour le récepteur Fas, qui induit l'apoptose cellulaire par sa liaison)<sup>3</sup>, *ATM* (*Ataxia Telangiectasia Mutated*) qui initie la réparation de l'ADN (Acide désoxyribonucléique)<sup>4</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>2,5</sup>. L'association de l'activation de proto-oncogènes (régulateurs positifs de la prolifération cellulaire) et de gènes antiapoptotiques (impliqués dans la survie cellulaire) est essentielle dans la lymphomagenèse.

Ces mécanismes sont cependant multiples et varient selon le sous-type de LBDGC considéré (cf figure 3)<sup>6</sup>.

En effet les lymphomes GC (issus de lymphocytes du centre germinatif) présentent :

- l'expression de gènes du GC tels que *CD10*, *LM02* et *BCL6* (réprime la transcription).
- 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* (inhibe la différenciation cellulaire, l'arrêt du cycle cellulaire et la réparation de l'ADN)<sup>7</sup>.
  - des amplifications de *REL* (proto-oncogène permettant la prolifération et la survie cellulaire par la voie NF-κB (*Nuclear factor kappa B*)<sup>8</sup> et des altérations de *PTEN* (*Phosphatase and tensin homolog*) gène suppresseur de tumeurs<sup>9</sup>.
  - une mutation ponctuelle du gène *EZH2* (histone méthyltransférase) aboutissant à un gain de fonction et une hyperméthylation de l'histone 3 activant la transcription de gènes silencieux<sup>6</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<sup>10,11</sup>, il s'agit :
- des gènes *CCND2* (cycline D2), *CD44* ou encore *IRF4* (MUM1).
  - de la surexpression de *BCL2* par d'autres mécanismes que la translocation t(14,18), dérégulation de la transcription et amplification de gènes
  - de l'activation constitutive de la voie NF-κB qui promeut la survie cellulaire, la prolifération et inhibe l'apoptose<sup>12,13</sup>.

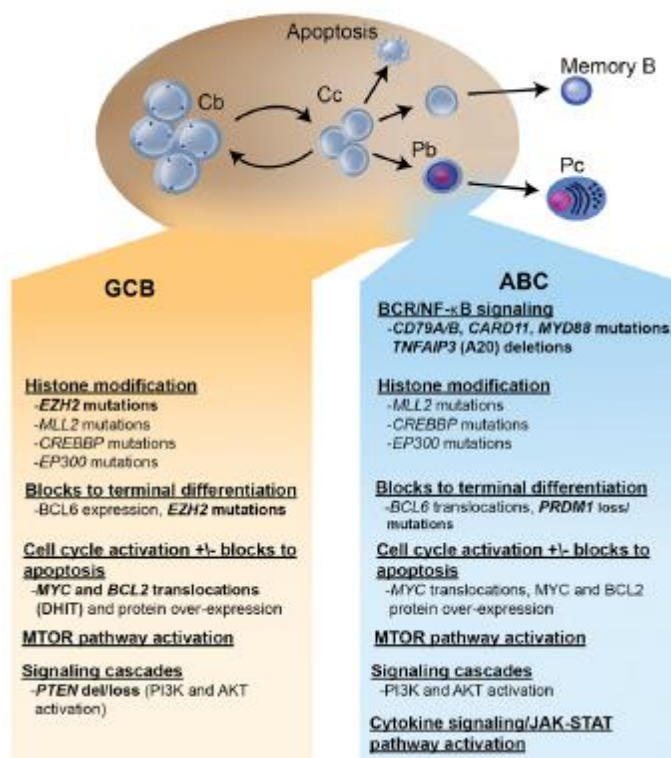


Figure 3: Voies oncogéniques selon le sous-type de LBDGC <sup>6</sup>

Dans les cellules B normales, la voie NF- $\kappa$ B est plus ou moins activée selon le stade de maturation cellulaire. Lorsque le lymphocyte B est mature, la voie NF- $\kappa$ B s'éteint quasiment. En revanche, lorsque le BCR se lie à l'antigène, il active une cascade de signaux intracellulaires qui contrôlent la prolifération et l'apoptose. Ces signaux sont transmis par des protéines kinases de la famille Src (Lyn) et de la famille Syk, puis par la protéine Btk (*Burton's Tyrosine Kinase*) et aboutissent à l'entrée de NF- $\kappa$ B dans le noyau, son activation et la surexpression de ses gènes cibles. Dans les LBDGC, cette voie est activée dans les lymphomes de sous-type ABC mais pas dans le type GC<sup>14</sup>. La mutation des gènes *CARD11*, *CD79A/B*, *A20* ou *MYD88* entraîne l'activation de protéines kinases liées au BCR et activant la voie NF- $\kappa$ B. Une fois activée, la voie NF- $\kappa$ B est responsable de la surexpression de gènes antiapoptotique (tel que *BCL-XL*, *cIAP1*, *cIAP2*, *cFLIP*) qui vont sécréter des cytokines favorisant la prolifération telles que IL-2, IL-6 ou CD40L.

## 1.3 LBDGC

### 1.3.1 Définition, épidémiologie, description, bilan diagnostic

Les LBDGC NOS (*not otherwise specified*) sont les plus fréquents des lymphomes agressifs. Ils constituent environ 30% des lymphomes non-hodgkiniens diagnostiqués en Occident<sup>15</sup>. L'âge médian de diagnostic est de 70 ans mais ce lymphome touche également les jeunes adultes et les enfants. Ils sont un peu plus fréquents chez les hommes que chez les femmes. Il n'y a pas de facteurs étiologiques identifiés à ce jour. Ils peuvent survenir « *de novo* » ou bien être issu de la transformation d'un lymphome B non agressif (lymphome folliculaire ou leucémie lymphoïde chronique par exemple) en lymphome agressif.

Le lymphome peut se révéler cliniquement par des signes tumoraux, dans  $\frac{3}{4}$  des cas ils sont révélés par une atteinte ganglionnaire ou des manifestations en liens avec des atteintes extraganglionnaires. Des signes généraux comme une asthénie, la perte de poids, les sueurs nocturnes ou la fièvre sont également révélateurs. Dans le cas de fortes masses tumorales, il peut y avoir un syndrome de lyse spontanée sur le plan biologique.

La classification d'Ann Arbor permet d'évaluer l'extension de ces lymphomes en les répartissant en 4 stades (voir annexe)<sup>16</sup>.

Au diagnostic, un bilan complet clinique, biologique et d'imagerie est réalisé afin d'établir le bilan d'extension de la maladie et l'absence de contre-indication au traitement.

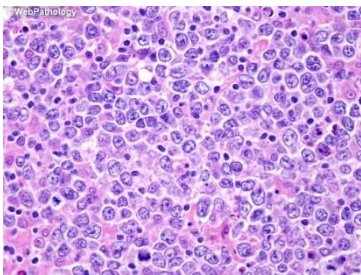


On évalue notamment le *Performans status*<sup>17</sup>, une des échelle représentant l'altération de l'état général qui est constitué de 5 stades (allant du stade 0 : absence au stade 4 : alitement permanent) (voir annexe).

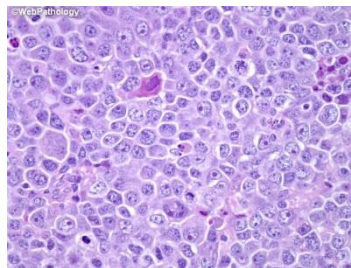
### 1.3.2 Diagnostics

#### 1.3.2.1 Diagnostic histologique

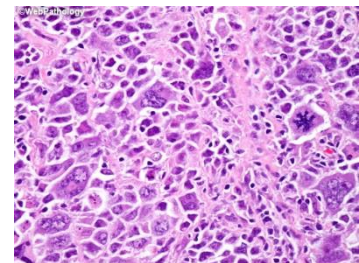
La classification des hémopathies malignes de l'OMS de 2008<sup>15</sup> définit les LBDGC comme une prolifération diffuse de lymphocytes B de taille moyenne à grande effaçant partiellement ou totalement l'architecture ganglionnaire. Sur le plan morphologique, on distingue 3 principaux sous-types : le centroblastique, l'immunoblastique et l'anaplasique Figure 4.



Variant centroblastique



Variant immunoblastique



Variant anaplasique

Figure 4: Coupes anatomo-pathologiques des 3 sous-types de LBDGC (référence webpathology)

#### 1.3.2.2 Diagnostic phénotypique

Le caractère lymphocytaire B mature est confirmé par l'immunophénotypage qui retrouve communément les marqueurs B comme le CD19, le CD20, le CD22 (qui sont des marqueurs pan-B), le CD79a mais aussi le CD10 (30 à 60%), BCL6 (*Bcell lymphoma 6 protein*) (60 à 90%) et MUM1 (*Multiple Myeloma oncogen 1*) (35 à 65%).

L'anticorps MiB1 cible une protéine nucléaire des cellules en mitose (Ki67) et permet d'avoir un reflet du caractère proliférant de la tumeur.

L'étude du profil d'expression génique (GEP) a conduit à l'instauration d'une classification différenciant les LBDGC de type lymphocyte B activé (ABC) des LBDGC de type centre germinatif (GC). Les techniques de GEP (microarray) ou NGS utilisées dans les études ne sont actuellement pas disponibles en routine. En effet, pratiquées sur des prélèvements frais,

ces techniques ne sont pas développées sur paraffine et requièrent un appareillage sophistiqué. De ce fait, des algorithmes diagnostiques basés sur des marqueurs d'immuno-histochimie ont été développés. L'algorithme le plus fréquemment utilisé est l'algorithme de Hans<sup>18</sup>. Il est basé sur le marquage de CD10, BCL6 et MUM1 (voir figure 5). Mais d'autres algorithmes sont également développés<sup>19-21</sup>. Bien que la corrélation avec les résultats de l'étude du GEP soit imparfaite, ces algorithmes permettent d'identifier les LBDGC de type GC et les LBDGC non-GC<sup>22</sup>.

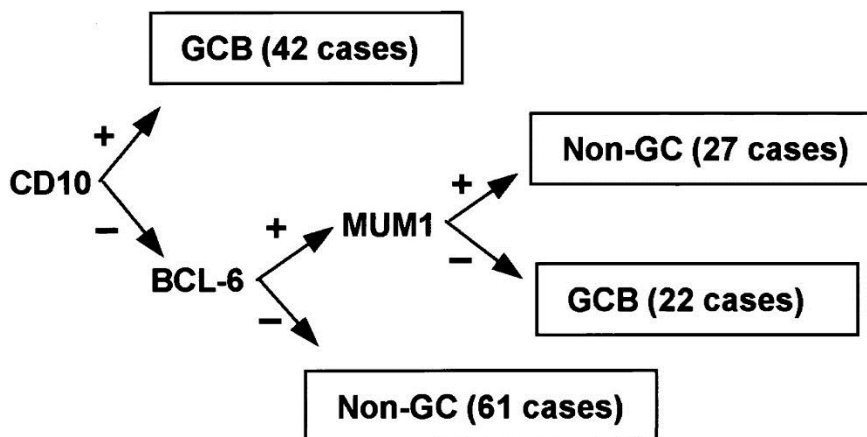


Figure 5: Classification des LBDGC selon l'algorithme de Hans (Hans et al., 2004)

### 1.3.2.3 Diagnostic cytogénétique

Les principales altérations géniques conduisant au LBDGC sont les mutations, les translocations et les délétions. Les principaux gènes les plus souvent retrouvés sont *BCL2* (*B cell Lymphoma 2*), *BCL6* et *MYC*.

Le caryotype permet de définir une formule cytogénétique. Cette technique s'effectue sur prélèvement frais et nécessite une étape de mise en culture des cellules, la lecture du caryotype s'effectuant lors de la métaphase.

La Fluorescence In Situ par Hybridation (FISH) est basée sur l'utilisation de sondes fluorescentes (fragments d'ADN synthétique marqués par des fluorochromes) capable de s'hybrider avec leur cible complémentaire dans le noyau de la cellule concernée, permettant d'identifier des amplifications ou des translocations de la séquence concernée.

La technique de FISH s'effectue sur prélèvements frais, inclus en paraffine ou congelés quelle que soit la phase du cycle cellulaire. Néanmoins, cette technique est restreinte aux gènes ciblés par les sondes choisies en fonction du contexte clinique.

### 1.3.3 Traitement

La prise en charge thérapeutique des patients LBDGC prend en compte le caractère localisé ou disséminé de la maladie.

La chimiothérapie à base d'anthracycline (CHOP) a été associée au rituximab à partir des années 2000. Cela a permis une amélioration considérable du taux de réponse et de la survie des patients quel que soit l'âge ou le stade des patients (survie globale à 3 ans de 93% contre 84%  $p=0,0001$  pour les patients de moins de 60 ans, et une survie globale à 5 ans de 58% contre 45% pour les patients de 60 à 80 ans)<sup>23-25</sup>.

Pour les patients LBDGC avec un stade localisé sans facteur de pronostic défavorable (aaIPI=0), le traitement de référence est une immuno-chimiothérapie de type R-CHOP 4 ou 6 cycles. La radiothérapie en clôture de traitement (40Gy) a démontré un intérêt en survie avant l'ère du Rituximab. A l'ère actuelle du Rituximab, son intérêt ne se confirme pas pour les patients ayant obtenu une réponse complète et peut être indiquée pour les patients avec masse bulky<sup>26</sup>.

Un traitement plus intensif par R-ACVBP est associé à une toxicité hématologique plus importante <sup>27</sup> mais apporte un bénéfice de survie pour les patients de type GC par rapport à un traitement par R-CHOP (SG 3 ans : 97% *versus* 87%,  $p=0,007$ )

Pour les stades étendus, le choix du traitement se fait en fonction de l'âge.

Pour les patients jeunes (moins de 60-65ans), on retient un traitement par immuno-chimiothérapie de type R-CHOP, soit 8 cycles de 14 jours avec une évaluation intermédiaire par TEP après 4 cycles. L'intensification par autogreffe améliorerait la survie des patients à l'ère pré-rituximab<sup>28,29</sup>. Aujourd'hui, l'autogreffe en première ligne est remise en cause. Dans l'essai GOELAMS 075, on retrouve une même efficacité d'un traitement par 8 R-CHOP 14 comparé à un protocole intensifié suivi d'une autogreffe et ce quel que soit l'IPI. On note que le taux de réponse complète lors de l'évaluation intermédiaire était plus important après 4 cures que dans le bras avec induction renforcée. L'autogreffe apporte un bénéfice pour les patients ayant une TEP intermédiaire positive à l'issue des 4 premiers cycles de R-CHOP 14<sup>30</sup>.

Les patients plus âgés (>60-65 ans) reçoivent 8 cycles de R-CHOP à intervalles de 21 jours. En effet, chez les patients âgés de plus 60 ans avec au moins un facteur de risque, le traitement R-CHOP avec des cycles de 14 jours n'apporte pas de bénéfice par rapport aux cycles de 21 jours et augmente le recours aux transfusions.

### 1.3.4 Facteurs pronostiques

#### 1.3.4.1 Pronostic clinique

- La classification Ann Arbor a une valeur pronostique insuffisante, d'autres scores prédictifs du devenir des patients ont été développés dont le score IPI (*International Pronostic Index*)<sup>31</sup>. Il se base sur 5 paramètres : l'âge supérieur à 60 ans, un taux de LDH supérieur à la normale, un stade *Ann Arbor* III ou IV, la présence d'au moins 2 localisations extra-ganglionnaires et un *Performans Status* (PS) supérieur à 2.

Les patients sont classés en 4 sous-groupes de risque (faible 0 à 1 point, intermédiaire faible 2 points, intermédiaire haut 3 points et haut 4 à 5 points) prédictifs de la survie globale (SG) à 5 ans qui est respectivement de 73%, 51%, 43% et 26%.

- Un IPI ajusté à l'âge (IPI<sub>aa</sub>) a été développé pour les patients de moins de 60 ans. Il est calculé sur 3 points : le *Performans status*, le taux de LDH et le stade clinique<sup>31</sup>.

- Avec le développement d'anticorps anti-CD20 (le rituximab), le score IPI reste un facteur pronostique de survie significatif et indépendant<sup>32</sup> mais il perd de sa valeur pronostique puisqu'il n'identifie plus que 2 sous-groupes pronostiques (à faible et haut risque).

Un score IPI revisité (R-IPI) développé stratifie les groupes de patients en 3 sous-groupes de pronostic différent : très bon (SG 4 ans 94%), bon (SG 4 ans 79%), et pauvre (SG 4 ans 55%)<sup>33</sup> permettant une meilleure discrimination des patients selon leur pronostic (voir figure 6 et tableau 1).

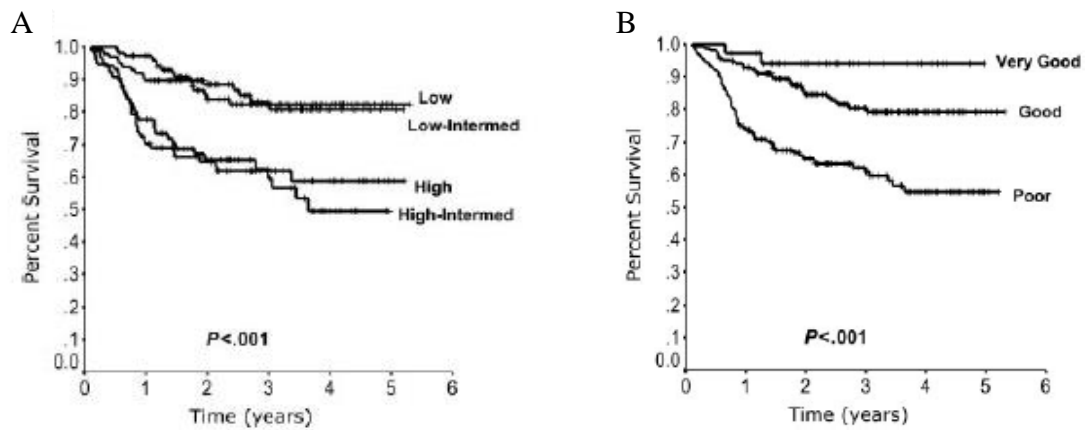


Figure 6: Survie globale selon l'IPI (A) et selon le R-IPI (B) de patients avec LBDGC traités par R-CHOP<sup>33</sup>

Risk group	No. of IPI factors	% Patients	4-year PFS, %	4-year OS, %
<b>Standard IPI</b>				
Low	0, 1	28	85	82
Low-intermediate	2	27	80	81
High-intermediate	3	21	57	49
High	4, 5	24	51	59
<b>Revised IPI</b>				
Very good	0	10	94	94
Good	1, 2	45	80	79
Poor	3, 4, 5	45	53	55

Tableau 1: Survie globale de patients avec LBDGC traités par R-CHOP selon IPI et R-IPI<sup>33</sup>

● L'index NCCN-IPI est basé sur les mêmes 5 critères que le score IPI initial mais il prend en compte en plus l'incrémentation de l'âge (4 catégories) et le taux de LDH (3 catégories)<sup>34</sup>. La répartition pronostique des patients se fait en 4 sous-groupes, permettant une meilleure stratification de patients de plus mauvais pronostics. Les groupes de risque faible, intermédiaire faible, intermédiaire haut et haut ont respectivement une SG à 5 ans de 96%, 82%, 64% et 33 % (voir figure 7).

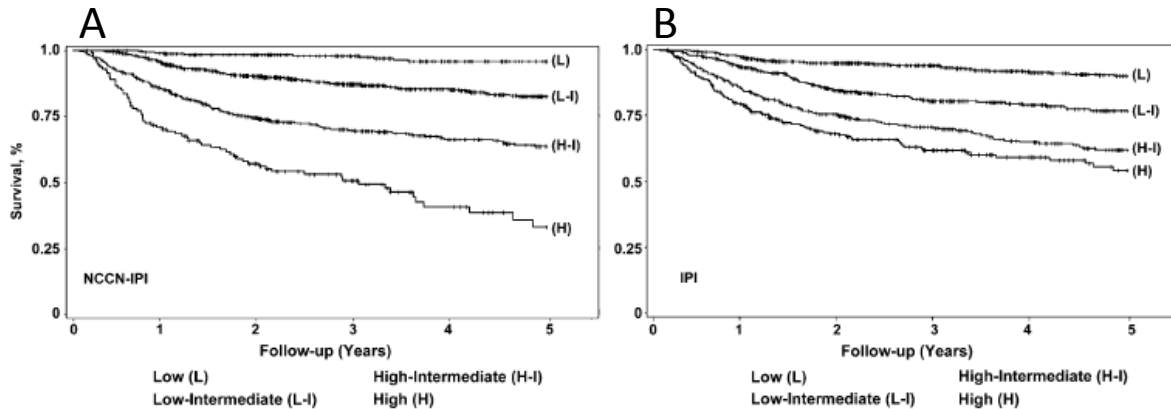


Figure 7: Stratification de courbe de survie selon le score NCCN-IPI (A) et le score IPI (B) pour LBDGC (Zhou et al., n.d.)

Au sein de ces sous-groupes, il persiste des différences de survie que le score IPI, même amélioré, ne peut caractériser. L'IPI et le R-IPI n'individualisent plus les patients ayant une SG de moins de 50 %. Il a donc été nécessaire de rechercher d'autres facteurs pronostics pour permettre une meilleure stratification pronostique.

#### 1.3.4.2 Pronostic phénotypique

Ces dernières années, le profil d'expression génique (GEP) étudié par technique de *DNA microarray* a permis l'identification de 3 sous-types principaux de LBDGC : le type centre germinatif (GC) (le plus fréquent 66%), le type lymphocyte B activé (ABC pour *activated B-cell-like*) (32%) et le type primitif du médiastin (27%) (voir figure 10)<sup>10</sup>.

Ces lymphomes présentent une morphologie identique malgré l'existence de différences géniques. En effet, on ne trouve la translocation de BCL2 que dans le groupe-GC, il est aussi associé à des gains plus fréquents de 1q, 2p, 7q. De même, le groupe ABC est caractérisé par des gains 3q, 18q, et 19q et la perte de 6q et 9p21<sup>35</sup>. Des études de NGS (*next generation sequencing*) couplées à l'étude du GEP permettent de mettre en évidence que ces sous-types correspondent à des entités bien distinctes qui utilisent des voies de transformation oncogénique distinctes<sup>10,36</sup>.

L'hétérogénéité globale de survie des patients atteints de LBDGC est le reflet de l'hétérogénéité moléculaire et génique.

Ces sous-types, identifiés par l'étude du GEP, ne constituent pas uniquement des entités moléculaires mais présentent également des différences cliniques et pronostiques.

En comparant les 3 groupes, la survie globale à 5 ans des patients de type-GC est de 60%, celle des patients de type-ABC de 35% et celle des patients de type primitif du médiastin est de 39% (cf figure 9)<sup>11</sup>.

Cette classification est un facteur pronostic indépendant du score IPI dont la significativité reste d'actualité à l'ère du rituximab<sup>37</sup>.

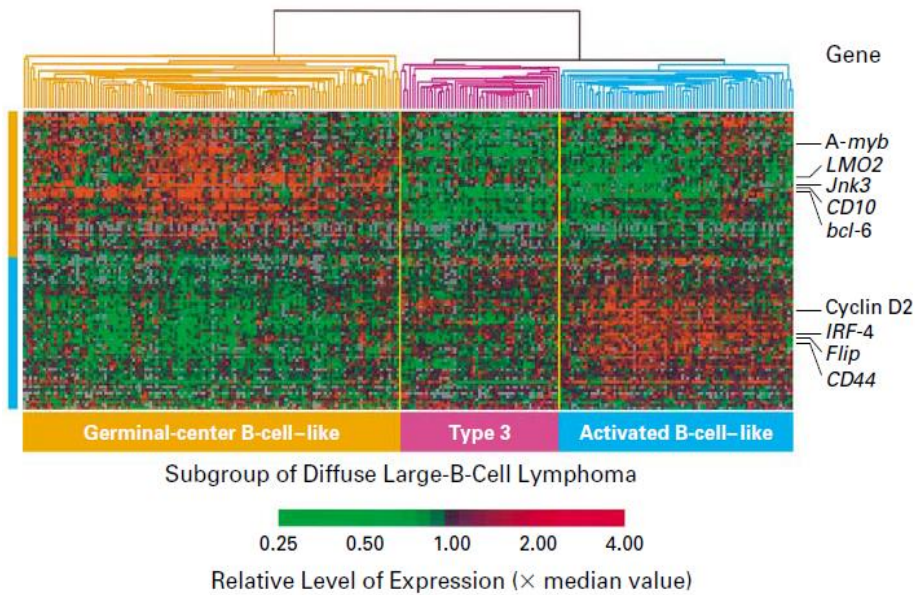


Figure 8: Profil d'expression génique selon les différents sous-type de LBDGC (Rosenwald et al., 2002)

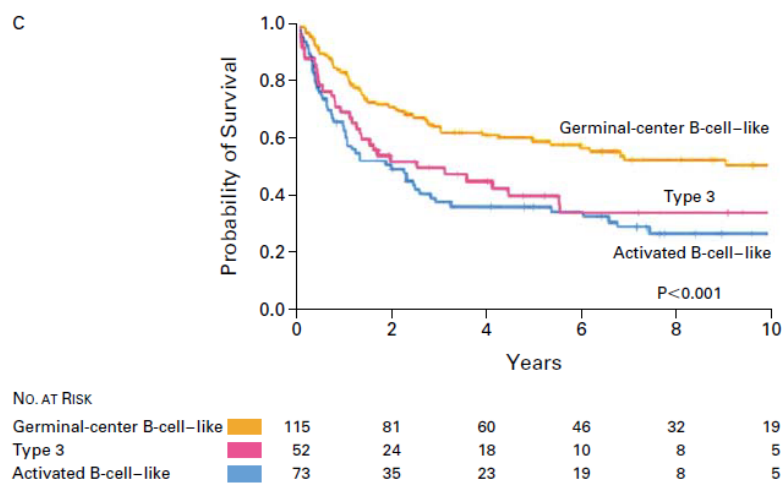


Figure 9: Courbe de survie selon le sous-type GC, ABC et type 3 par GEP (Rosenwald et al., 2002)

#### 1.3.4.3 Pronostic immuno-histochimique

Au cours des dernières années, l'expression de la protéine MYC dans les LBDGC a été plus étudiée. La protéine MYC est surexprimée dans environ un tiers des LBDGC. Elle est associée à une surexpression de BCL2 dans 20 à 35% des cas<sup>38</sup>.

L'impact défavorable de l'expression de la protéine BCL2 sur le pronostic a été décrit dans l'ère précédant l'immunothérapie<sup>39</sup>. Ce pronostic a été effacé par l'ajout du Rituximab à la chimiothérapie chez les patients LBDGC *de novo*<sup>40</sup>.

Indépendamment de l'impact clinique de la modification du gène MYC, une forte expression protéique a également été liée à une survie inférieure. La protéine BCL2 est également simultanément surexprimée dans environ 60% des cas de DLBCL surexprimant la protéine MYC, en absence de réarrangement génique. Ces patients correspondent aux lymphomes double expresseurs. Ils sont initialement décrits comme ayant un pronostic de survie plus faible que les cas de surexpression de seulement une des deux protéines<sup>41 42</sup>. Néanmoins, l'impact de la surexpression de la protéine MYC et de la co-expression MYC-BCL2 est controversé dans les études, et ce, notamment à cause de la variabilité des seuils d'expression retenus et du manque de reproductibilité des études.

#### 1.3.4.4 Pronostic cytogénétique

Le réarrangement du gène *MYC* confère un pronostic de survie défavorable aux patients LBDGC traités par R-CHOP (SG à 5 ans de 33% contre 75% pour les patients non réarrangés)<sup>43,44</sup>.

Il est rapidement mis en évidence que la translocation de *MYC* associée à une translocation de *BCL2* ou *BCL6* sont de plus mauvais pronostic<sup>45</sup>.

#### 1.3.4.5 Complexification des LBDGC

Des études cliniques, biologiques et morphologiques ont permis de subdiviser les LBDGC en des sous-groupes morphologique, moléculaire et immuno-phénotypique formant des entités distinctes. Les LBDGC pour lesquels il n'existe pas de critères clairs pour la subdivision sont classés comme LBDGC, NOS (Not Otherwise Specified). Cependant, certains lymphomes agressifs aux caractéristiques morphologiques et génétiques ne correspondant à aucune de ces catégories LBDGC ou LB correspondant aux lymphomes « burkitt-like » ou lymphomes de la zone grise ont été individualisés dans une entité nommée les lymphomes B inclassables avec caractéristiques intermédiaires entre celles du LBDGC et celles du lymphome de Burkitt (BCLU) dans la classification OMS 2008. C'est une catégorie très hétérogène, mal définie sur



le plan morphologique, pouvant présenter des réarrangements des gènes *MYC*, *BCL2* et *BCL6* de moins bon pronostic que les LBDGC, NOS.

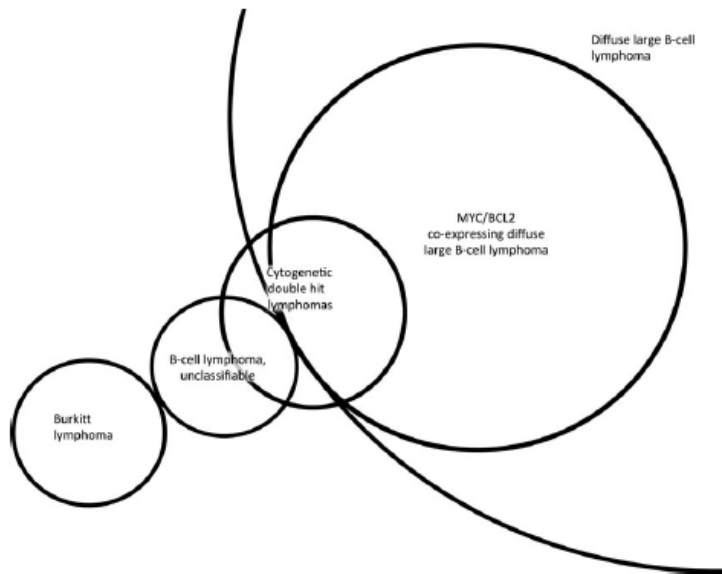


Fig 1. Venn diagram depicting relationship between B-cell lymphoma, unclassifiable, diffuse large B-cell lymphoma, Burkitt lymphoma, protein co-expressing lymphomas and cytogenetic double hit lymphomas.

Figure 10: Relation entre LBDGC, lymphoma B intermédiaire, Lymphome de Burkitt, Lymphome co-expresser et lymphoma double-hit <sup>46</sup>

Dans les suites des études de ces dernières années, la révision de la classification OMS 2016 des hémopathies a introduit la notion de lymphome de double-hit comme lymphome de haut grade au sein des LBDGC. La nouvelle classification de l'OMS mise à jour en 2016<sup>47</sup> confirme la distinction de type GCB versus ABC(non-GC) au sein des LBDGC, NOS et impose la nécessité de les différencier au diagnostic. Les techniques d'étude du GEP n'étant pas des techniques de routine pour établir le diagnostic, les algorithmes immunohistochimiques dont celui de HANS sont toujours acceptés.

La classification de l'OMS de 2016 définit un nouveau groupe au sein des lymphomes B agressifs : celui des lymphomes B de haut grade avec présence de réarrangement *MYC BCL2* et/ou *BCL6* en l'absence de critères de diagnostic de lymphome folliculaire ou lymphome lymphoblastique. Ce groupe de patients est identifié par la présence d'un réarrangement *MYC* et *BCL2* ou *MYC* et *BCL6* ou triple hit *MYC*, *BCL2* et *BCL6* en FISH. L'aspect histologique de type LBDGC ou intermédiaire entre LBDGC et BL est à préciser.

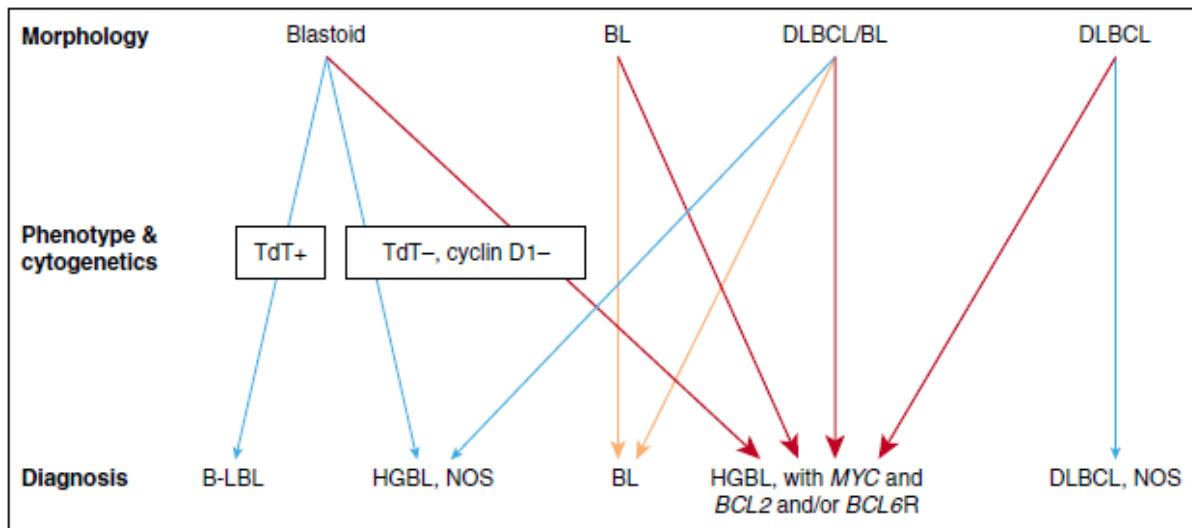


Figure 11: Approche diagnostique des lymphomes B de haut grade. Adapté de Kluin et al (in press) par Swerdlow et al 2016<sup>47</sup>

Le sous-groupe de lymphomes intermédiaires (BCLU) entre LBDGC et BL est supprimé. Les lymphomes présentant des caractéristiques morphologiques blastoïde ou intermédiaire entre LBDGC et BL, mais en absence du réarrangement des gènes MYC, BCL2 et BCL6 sont regroupés dans la catégorie de lymphome B de haut grade, non spécifié par ailleurs (High grade lymphoma, not otherwise specified : HGBL, NOS).

Au sein de la catégorie des LBDGC, NOS, on identifie un sous-groupe de lymphomes avec expression de protéines MYC et BCL2, sans anomalie de réarrangement des deux gènes associés. Sans pour autant l'individualiser de la catégorie LBDGC, NOS, ce sous-groupe serait de plus mauvais pronostic.

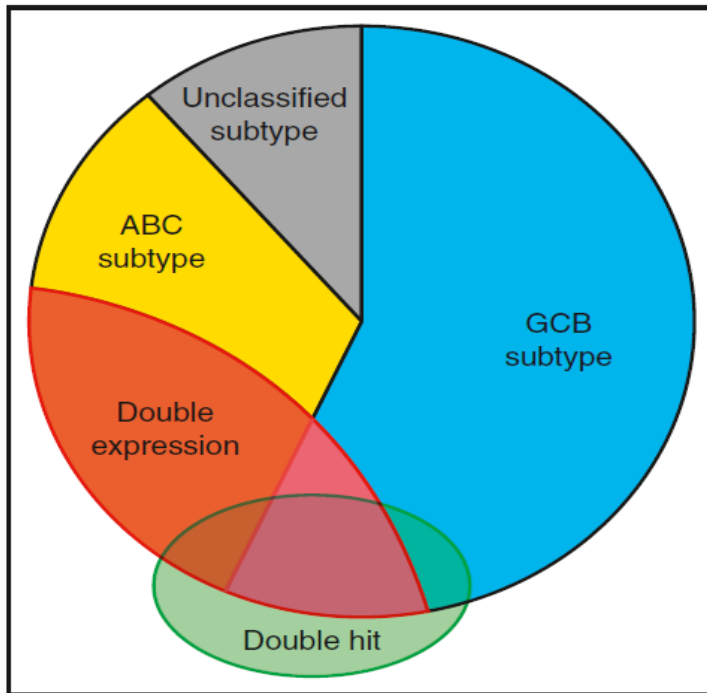


Figure 12: LBDGC et MYC <sup>48</sup>

## 1.4 LBDGC double-triple hit

### 1.4.1 Définition, Epidémiologie

La nouvelle classification de l'OMS de 2016 regroupe tous les lymphomes de haut grade avec réarrangement *MYC*, *BCL2* et/ou *BCL6* dans la même catégorie et ce quel que soit le sous-type histologique sous-jacent : LBDGC, lymphome de caractéristique intermédiaire entre lymphome de Burkitt et LBDGC (BCLU) ou lymphome lymphoblastique, lymphome du manteau blastoïde. Ces lymphomes sont aussi désignés par les termes de lymphome double-hit ou triple hit.

La fréquence de cette nouvelle catégorie de lymphomes n'est pas encore connue, néanmoins l'incidence des réarrangements *MYC/BCL2* et/ou *BCL6* est rapportée comme étant d'environ 10% au sein des LBDGC *de novo*, semble plus élevée dans les LBDGC secondaires à une transformation et jusqu'à 32% à 78% dans les BCLU. Cette dernière proportion est probablement surestimée car le caractère double-hit était un critère de diagnostic de BCLU dans certaines de ces études<sup>43,49-51</sup>.

### 1.4.2 Description clinique et histologique

Cliniquement ces lymphomes ont été initialement décrits avec des caractéristiques agressives.

Snuderln *et al* 2010<sup>52</sup> retrouve une médiane d'âge significativement plus jeunes à 63 ans pour les patients avec lymphome double-hit (n=20) et de 71 ans pour les patients LBDGC (n=40) (p=0,03). La proportion d'hommes est de 43%<sup>50</sup> et 55% dans les DHL ne différant pas de LBDGC<sup>52</sup>.

On retrouve un OMS  $\geq 2$  chez 81% des patients dans l'étude de Le Gouil *et al* 2007, chez 58% des patients dans l'étude de Niitsu *et al* 2009 et chez 32% des patients dans l'étude de Johnson *et al* 2009<sup>51,53,54</sup>.

Ils se présentent dans une majorité de cas avec un stade avancé : 69 à 100% des cas<sup>50-53,55-57</sup>, des localisations extra-ganglionnaires fréquentes, un taux de LDH élevé et un score IPI élevé<sup>58</sup>.

La morphologie de ces lymphomes est variable et doit être indiquée au diagnostic bien qu'elle ne modifie pas la classification.

La recherche de réarrangements se fait par la technique de FISH, un caryotype associé pouvant être utile pour mettre en évidence un caryotype complexe.

### **1.4.3 Traitement**

Il n'y a pas d'étude prospective permettant de répondre à la question du traitement chez ces patients. Cependant ils ont montré un mauvais taux de réponse et une survie globale inférieure à 1 an avec un traitement standard par R-CHOP<sup>59-61</sup>.

### **1.4.4 Gènes impliqués dans les réarrangements**

#### **1.4.4.1 Gène *MYC***

La famille de proto-oncogènes *MYC* comprend 3 gènes codant pour des facteurs de transcription *MYC*, *NMYC* et *NMYCL* qui régulent de nombreuses fonctions dans la cellule normale et ont un fort potentiel oncogénique<sup>62</sup>. Les translocations de *MYC* concernent quasi-exclusivement les pathologies néoplasiques, particulièrement les lymphomes B agressifs et les myélomes. L'amplification de gènes, les mutations ou les dérégulations de *MYC* par augmentation des voies de signalisation sont d'autres mécanismes oncogéniques alternatifs de plus faible fréquence dans ces pathologies. A défaut de connaître l'implication exacte des altérations du gène *MYC* dans la lymphomagénèse, la compréhension de son rôle dans la différenciation lymphocytaire B normale s'est récemment éclaircie<sup>63,64</sup>.

Les protéines de la famille *MYC* sont constituées de 3 domaines : un domaine transactivateur, un domaine bHLH (basic helix-loop-helix) qui sert à la dimérisation avec d'autres protéines

dont la protéine MAX, et un domaine leucine zipper qui permet de se lier à une séquence E-box (enhancer box). L'activation de la protéine MYC déclenche l'induction de la transcription des gènes régulés par MYC.

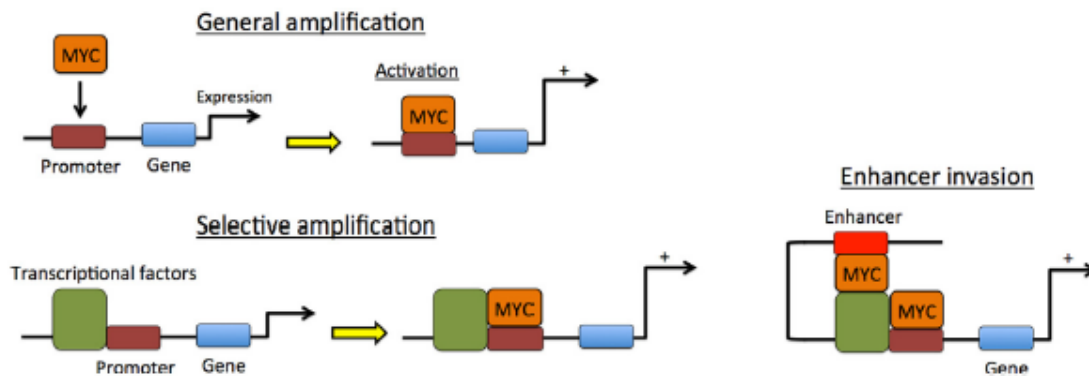


Figure 13: Schéma illustrant les mécanismes d'action de MYC (Karube & Campo, 2015)

MYC régule un large spectre de gènes estimés de 10 à 15% du génome humain dont un certain nombre de micro-RNA (ARNmi)<sup>65</sup>. Le mécanisme d'action de MYC sur la transcription des gènes est à l'heure actuelle encore débattu. Cette influence de MYC sur un large spectre de gènes est due à la présence du domaine E-box liant MYC sur un grand nombre de gènes, cependant l'effet global de MYC sur la transcription de gènes est variable d'un type de cellules à l'autre et plusieurs scénarios de fonctionnement sont explorés. Une des possibilités est que la protéine MYC agisse comme un amplificateur général des gènes transcrits par la cellule, ou bien comme amplificateur sélectif en association avec d'autres facteurs de transduction, ou encore qu'il interagisse avec la structure tridimensionnelle de l'ADN (voir figure 4)<sup>38</sup>.

MYC est un facteur de transcription qui contrôle l'expression de nombreux gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire, du métabolisme cellulaire, de la réparation de l'ADN, de la réponse au stress et de la synthèse des protéines. La prolifération cellulaire est modulée par le contrôle des gènes de check-point tels que la GADD45 et la régulation directe ou indirecte de plusieurs cyclines (CDK) et leurs inhibiteurs respectifs mais également par les gènes LDH-A et TERT. En outre MYC est impliqué dans la régulation de l'expression des micro-ARN (miARN) régulant de nombreux gènes cibles de manière indirecte. Les souris knock-out pour

le gène *MYC* présentent un épuisement des cellules souches hématopoïétiques (CSH), ce qui indiquerait que *MYC* peut également favoriser l'autorenouveau de la cellule souche. La dérégulation de *MYC* induit également un stress de réplication de l'ADN et une instabilité génomique ultérieure, ce qui peut être lié à son potentiel oncogène<sup>66</sup>. *MYC* peut également favoriser l'oncogenèse en régulant l'angiogenèse par la surexpression des régions de miARN de VEGF et de miR17-92.

En opposition avec les mécanismes précédemment décrits, l'expression de *MYC* active également les voies conduisant à la mort cellulaire. De fait, les cellules B dans lesquelles la protéine *MYC* est supprimée résistent à l'apoptose.

La signification biologique de ce phénomène n'est pas complètement comprise mais son rôle dans les cellules normales pourrait être de limiter le fort potentiel oncogène de *MYC*.

*MYC* est promoteur de l'apoptose en réprimant l'expression de protéines anti-apoptotiques telles que *BCL2* ou *BCLXL* et en promouvant l'induction de protéines pro-apoptotiques telles que *TP53* et *BIM*. Cet effet anti-tumoral de *MYC* concorde avec les observations précédentes indiquant que l'activation de *MYC* seule ne suffit pas au développement tumoral et nécessite l'association d'autres événements oncogéniques.

- Rôle de *MYC* dans la différenciation B

*MYC* joue un rôle crucial dans la formation des follicules lymphoïdes où la protéine *MYC* est exprimée et réprimée de manière transitoire dans différents sous-groupes de cellules. La protéine *MYC* n'est pas exprimée dans les lymphocytes B naïfs ; son expression est déclenchée par la stimulation antigénique à laquelle le lymphocyte B est exposé. Cette expression initiale de *MYC* est nécessaire au développement des centres germinatifs (GC), mais est réprimée précocement par *BCL-6* dans l'expansion initiale des centroblastes de la zone sombre du centre germinatif (GC)<sup>65</sup>. *MYC* est de nouveau exprimé dans un sous-ensemble de centrocytes de la zone claire du GC, qui se caractérise par la répression de *BCL6*, l'activation de *NFκB* et l'expression d'*IRF4*. Ces cellules *MYC*-positives de la zone claire vont rentrer à nouveau dans la zone sombre pour subir d'autres cycles de prolifération et des mutations hypersomatiques avec réarrangement des immunoglobulines (Ig) pour augmenter le répertoire antigénique (voir figure 14)<sup>38</sup>.

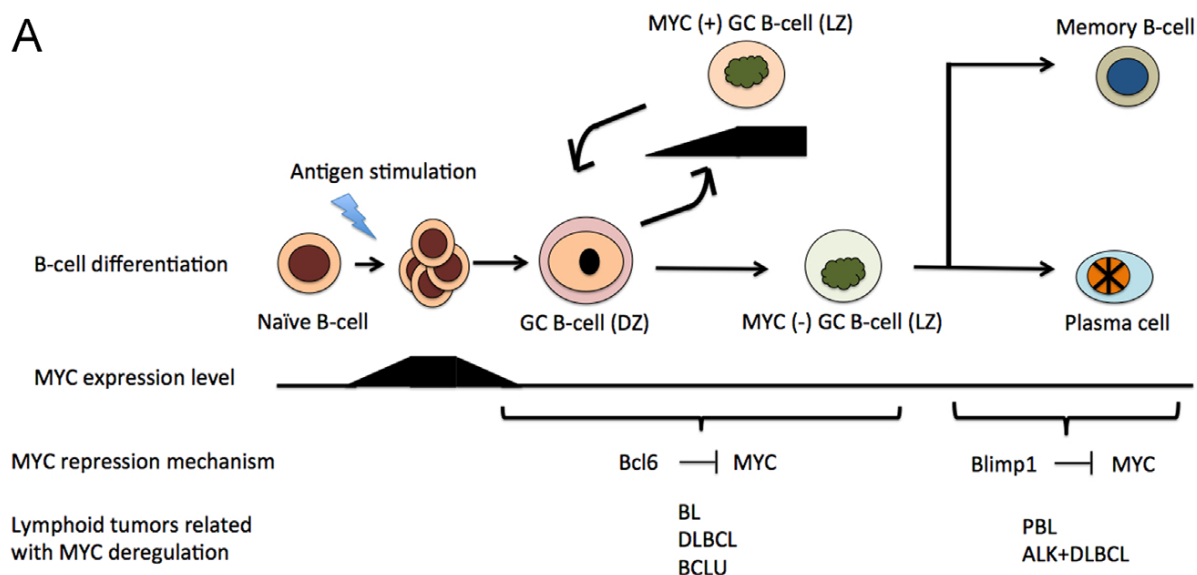


Figure 14: Niveau d'expression de la protéine MYC au cours de la différenciation lymphocytaire B et dans les hémopathies correspondantes<sup>38</sup>

Les centrocytes n'exprimant plus MYC dans la zone claire quittent le GC pour se différencier en lymphocyte B mémoires ou en plasmocytes. BCL6 et BLIMP1 se lient directement au promoteur de MYC et répriment son expression respectivement dans des lymphocytes B et les plasmocytes.

- **MYC et LBDGC**

Des anomalies du gène *MYC* ont été fréquemment décrites dans les LBDGC mais aussi dans d'autres lymphomes agressifs tels que le lymphome à cellules B inclassable avec des caractéristiques intermédiaires entre LBDGC et BL (BCLU), le lymphome plasmablastique (PBL) et le lymphome anaplasique à grandes des cellules ALK+. Étonnamment, ces lymphomes sont issus de lymphocytes qui normalement n'expriment pas MYC puisqu'ils présentent des taux élevés de facteurs de transcription BCL6 ou BLIMP1, ces derniers réprimant physiologiquement MYC. La surexpression de MYC dans ces cellules implique l'existence d'autres phénomènes oncogéniques majeurs capables de contrer l'effet répresseur de ces facteurs de transcription et d'inhiber la fonction anti-apoptotique de MYC (voir tableau 2)<sup>38</sup>.

**Table 1. Pathogenic Heterogeneity of MYC-Associated Lymphoid Tumors**

	DLBCL	BL	BCL-U	ALK+DLBCL	PBL
Main mechanism of MYC dysregulation	Translocation + amplification	Translocation	Translocation	Activation by STAT3	Translocation
MYC translocation	5% to 14%	90% to 100%	35% to 50%	0%	41% to 49%
MYC gain/amplification	21% to 38%	Very rare	No data	50%	20%
Translocation partners of MYC	Often non-IG (35-53%)	IG (100%)	Often non-IG (38%)	–	IG (83%), non IG (17%)
Concurrent <i>BCL2</i> rearrangement	Frequent (58% to 83%)	0%	47%	–	No data
Karyotype	Complex	Simple	Complex	Complex	No data
MYC expression	29% to 47%	100%	35%	100%	No data
<i>TCF3</i> or <i>ID3</i> mutation	Very rare	70%	21% (ID3 only)	No data	No data

Abbreviations: DLBCL, Diffuse large B-cell lymphoma; BL, Burkitt lymphoma; BCL-U, B-cell lymphoma unclassifiable with features intermediate between DLBCL and BL; PBL, plasmablastic lymphoma.

Tableau 2: Hétérogénéité des différents mécanismes altérant MYC dans les hémopathies (Karube & Campo, 2015)

Les différents mécanismes aboutissant à l'activation de *MYC* sont : la translocation, l'amplification et les mutations ponctuelles.

Les translocations ont été identifiées dans 5% à 15% des LBDGC<sup>38,50,58,67</sup>. Les gènes *IG* sont les partenaires de translocation de *MYC* les plus fréquents. Les points de réarrangement dans les gènes *IG* se retrouvent dans le domaine variable des immunoglobulines, suggérant que cette translocation a eu lieu dans le GC. Cette translocation juxtapose *MYC* à l'amplificateur *IGH* ou *IGL*, ce qui conduit à une activation constitutive de *MYC*<sup>68</sup>. Les gènes non-IG partenaires des translocations *MYC* dans 35% à 53% des cas de LBDGC sont *PAX5*, *BCL6*, *BCL11A*, *ICAROS49* et *BTG1*.

Les niveaux d'expression de *MYC* sont plus élevés dans les cas de translocation que dans ceux sans translocation, et ce quel que soit le partenaire de translocation de *MYC*.<sup>59</sup> Mais un taux de transcription de la protéine *MYC* est retrouvé de façon significativement plus élevée dans les lymphomes avec translocation impliquant un gène *IG* que dans les lymphomes avec une translocation non *IG-MYC*.

En dehors des translocations, le gain de *MYC* (défini comme la présence de 3 à 4 copies) a été identifié dans 19% et 38% LBDGC et les amplifications (>4 copies) dans 2% des LBDGC<sup>69,70</sup>. Leur significativité pronostique n'est pas tranchée.

Des mutations de *MYC* ont également été trouvées dans 32% de LBDGC<sup>71</sup>. Ces mutations sont principalement identifiées dans le domaine de la transactivation.



Le lien entre l'expression de la protéine MYC et l'altération du gène *MYC* est controversée car une surexpression de la protéine MYC peut être retrouvée dans des LBDGC en l'absence de ces anomalies du gène *MYC*<sup>42</sup>.

#### 1.4.4.2 Gène *BCL2*

Le gène *BCL2* est localisé sur le chromosome 18 au niveau du locus 18q21. Il code pour la protéine anti-apoptotique BCL2. Il possède de puissantes fonctions anti-apoptotiques notamment de réparation de l'ADN, et c'est notamment cette fonction qui est altérée en cas de surexpression de la protéine. BCL2 est exprimé dans les cellules B immatures et les lymphocytes B mémoires, mais est temporairement réprimé dans les cellules du centre germinatif, en partie à cause de BCL6<sup>72</sup>. Ceci conduit à un avantage de survie des cellules B impliquées. Le gène *BCL2* a initialement été décrit dans les lymphomes folliculaires<sup>73</sup> avec la translocation t(14;18), juxtaposant le gène *IgH* et le gène *BCL2* entraînant une surexpression de la protéine BCL2. La translocation t(14;18) est insuffisante pour provoquer à elle seule un lymphome folliculaire<sup>74</sup>, en effet, cette translocation est également retrouvée chez des personnes en bonne santé<sup>75</sup> et provient probablement des mêmes mécanismes. Les événements oncogéniques supplémentaires nécessaires au développement du lymphome folliculaire ne sont pas connus.

La translocation t(14;18) se retrouve également dans le LBCGC, notamment dans le sous-type GC. L'altération du gène *BCL2* retrouvée dans le sous-type ABC correspond plus fréquemment à des amplifications du gène.

Le réarrangement du gène *BCL2* peut être associé à celui du gène *MYC*, définissant les LBDGC double-hit.

#### 1.4.4.3 Gène *BCL6*

Le gène *BCL6* est localisé sur le chromosome 3, en position 3q27. Il code pour le facteur de transcription BCL6 qui est composé de 6 domaines en doigt de zinc, d'une partie N-terminale composée d'un domaine POZ (*pox virus/zinc finger*) et au centre d'un domaine de répression de la transcription.

BCL6 est exprimé dans de nombreux tissus, mais dans les cellules B, il est principalement restreint aux cellules du GC<sup>76</sup>. BCL6 est indispensable à la formation des GC, en effet, les souris déficientes en BCL6 ne développent pas de GC<sup>77,78</sup>. BCL6 est un facteur de transcription réprimant la transcription de nombreux gènes cibles comme *BCL2*, *TP53*, *IRF4* et *BLIMP1*, gènes qui sont impliqués dans l'apoptose, la réponse aux altérations de l'ADN, le contrôle du cycle cellulaire, la prolifération et la différenciation cellulaire<sup>7,79-82</sup>. La

surexpression de *BCL6* dans un modèle de souris, équivalent à une translocation *BLC6*, entraîne l'apparition d'une lymphoprolifération comparable à un LBDGC<sup>83</sup>. La translocation *BCL6* est retrouvée dans les LBDGC mais également dans les lymphomes folliculaires et certains lymphomes de lymphocytes B de zone marginale.

Le réarrangement de *BCL6* est également constaté dans 30 à 40% des LBDGC<sup>58</sup> et peut, tout comme le réarrangement de *BCL2*, être associé à un réarrangement de *MYC* correspondant au LBDGC double-hit.

#### **1.4.5 Objectif de l'étude**

L'évolution des classifications OMS des hémopathies malignes B met en évidence que les LBDGC sont un groupe hétérogène de lymphomes correspondant plutôt à des pathologies avec mécanismes oncogéniques et pronostics très différents. Nous avons choisi de nous intéresser au LBDGC avec réarrangement *MYC BCL2 et/ou BCL6*.

Il n'y a pas de recommandation de l'OMS précisant les cas de lymphomes B agressifs devant faire l'objet de la recherche de réarrangement de gènes ou si tous les lymphomes B agressifs doivent être explorés. Actuellement, il n'y a pas non plus de recommandation thérapeutique concernant ce groupe de patients relativement hétérogène.

Il nous paraît primordial de définir une prise en charge diagnostique multidisciplinaire consensuelle. Dans cette étude rétrospective et monocentrique, nous avons évalué la prise en charge diagnostique actuelle des lymphomes double-hit et nous l'avons confronté à la littérature afin de discuter d'une stratégie diagnostique optimale à mettre en œuvre pour ces patients. De plus, il n'existe pas de recommandation concernant la thérapeutique initiale qui est un enjeu majeur pour la survie de ces patients avec hémopathie agressive au diagnostic. Nous avons évalué les réponses aux traitements réalisés dans notre centre et nous les avons comparés aux données de la littérature.

## 2 Matériels et Méthodes

### 2.1 Méthodologie de l'étude

#### 2.1.1 Méthodologie

Notre travail a été réalisé en collaboration avec Docteur Arbion du service d'anatomie et cytologie pathologique de l'hôpital Bretonneau et le Docteur Hammouche du service de cytogénétique du CHRU de Tours.

Nous avons sélectionné de manière rétrospective des patients ayant un diagnostic anatomo-pathologique de lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC) avec un réarrangement des gènes *MYC-BCL2* et/ou *BCL6*, que nous avons voulu comparer, d'une part aux patients présentant un LBDGC *de novo*, avec double expression des protéines MYC et BCL2, et d'autre part, aux patients présentant un LBDGC, NOS *de novo* diagnostiqués et suivis dans le service d'hématologie et thérapie cellulaire du CHRU de Tours.

Les patients ont été identifiés à partir des fiches de RCP de la région Centre, entre les années 2012 et 2015 avec le diagnostic de lymphomes B diffus à grandes cellules, codage C833.

Devant certaines données manquantes au diagnostic sur les fiches de RCP, notamment concernant les données immunohistochimiques ou cytogénétiques, nous avons complété la caractérisation de ces patients grâce à la base de données du laboratoire d'anatomo-pathologie avec le code correspondant aux lymphomes B diffus à grandes cellules ainsi qu'à partir des données du laboratoire de cytogénétique du CHRU de Tours.

Concernant les dates choisies, les patients des années antérieures à 2012 n'avaient pas de données immunohistochimiques par rapport à l'expression de la protéine MYC et ils avaient, de plus, déjà fait l'objet d'une étude rétrospective. D'autre part, la prise en charge thérapeutique de ces lymphomes agressifs avant 2012 était plus hétérogène. Nous avons arrêté l'identification des patients à l'année 2015 afin d'avoir un recul suffisant.

Les patients du groupe contrôle de LBDGC, NOS *de novo* ont été identifiés à partir des fiches de RCP sur cette même période, comprise entre les années 2012 et 2015. Nous avons choisi des patients qui étaient en bon état général au moment du diagnostic et du passage en RCP. Ont été exclus de ce groupe les patients pour lesquels un lymphome de bas grade antérieur ou concomitant était décrit sur ces fiches, car ces patients présentent des caractéristiques

différentes et notamment un taux de lymphomes double-hit plus fréquent, jusqu'à 21% après la transformation du lymphome non Hodgkinien (LNH) folliculaire<sup>55</sup>.

### **2.1.2 Objectif principal**

L'objectif principal de l'étude était l'évaluation de la survie globale (SG) et de la survie sans progression (SSP) des patients atteints de LBDGC double ou triple-hit *MYC-BCL2* et/ou *BCL6*, et des patients atteints de LBDGC double-expresser *MYC-BCL2*, en comparaison avec un groupe de patients *fit* (c'est-à-dire en capacité de recevoir un traitement par immunochimiothérapie optimale) avec un diagnostic de LBDGC, NOS *de novo*.

### **2.1.3 Objectif secondaire**

L'objectif secondaire de l'étude était d'évaluer la méthode diagnostique actuelle des lymphomes double ou triple-hit et leur prise en charge thérapeutique au CHRU de Tours. En outre, nous avons cherché à identifier les caractéristiques clinico-biologiques ou thérapeutiques en tant que pronostics prédictifs de survie, dont l'autogreffe.

## **2.2 Sélection des Patients**

### **2.2.1 Critères d'inclusion :**

Il y a eu plusieurs critères d'inclusion communs aux 3 groupes. Un premier critère était l'âge supérieur à 18 ans et le deuxième critère diagnostique histologique selon la classification de l'OMS de 2008 des lymphomes B diffus à grandes cellules. (Swerdlow, 2008.) Le diagnostic devait être réalisé entre 2012 et 2015 dans le service d'hématologie et thérapie cellulaire du CHRU de Tours. Un troisième critère concernait les informations cliniques, biologiques et histologiques au moment du diagnostic ; elles étaient requises pour chacun des patients. Enfin, les patients devaient avoir reçu au moins une cure de chimiothérapie et avoir un suivi sur au moins deux années après le traitement.

### Cohorte de LBDGC double et triple-hit :

Pour cette cohorte, le critère supplémentaire d'inclusion était la présence de réarrangements concomitants des gènes *MYC*, *BCL2* et/ou *BCL6* par la technique de FISH.

Dans ce groupe, tous les patients ayant plus de 18 ans étaient retenus, sans limite supérieure d'âge, quel que soit le stade de leur maladie ou le caractère histologique de transformation d'un lymphome de bas grade. En effet, du fait de la rareté de ce type de lymphome, nous

n'avons pas voulu prendre des critères d'exclusion trop stricts afin de ne pas exclure trop de patients.

Concernant les deux autres cohortes ci-dessous, nous avons retenu des patients d'âge inférieur à 70 ans, et des patients *fit*, c'est-à-dire en capacité de recevoir un traitement par immunochimiothérapie optimale, voire même une intensification thérapeutique et une autogreffe CSP (cellules souches périphériques) si l'indication était retenue. Nous avons sélectionné des patients ayant un stade II ou atteinte disséminée (selon la classification d'Ann Arbor), afin d'obtenir des groupes homogènes en comparaison avec le groupe précédent. En effet, les patients ayant un LBDGC double-hit ont généralement une présentation clinique du lymphome plus grave et disséminée. En excluant le stade I, nous avons éliminé des patients ayant eu une radiothérapie de clôture à la fin du traitement d'induction.

#### Cohorte de LBDGC double/triple-expresser :

Pour cette cohorte, le critère supplémentaire d'inclusion était la présence d'expression des protéines MYC et BCL2 dans les cellules tumorales, expression objectivée par l'immunomarquage réalisé sur coupe de paraffine en histologie. Ces patients étaient identifiés à partir du groupe de patients LBDGC, NOS, âgés de moins de 70 ans, avec stade Ann Arbor de II à IV, après avoir exclu les patients LBDGC avec diagnostic de transformation.

#### Cohorte de LBDGC, NOS *de novo*

Le groupe de LBDGC, NOS *de novo* est considéré comme notre groupe comparateur. Les patients LBDGC, NOS *de novo* n'étaient pas issus d'une transformation histologique d'un lymphome de bas grade sous-jacent, et n'avaient pas été traités antérieurement. En effet, il était important de garder une population comparatrice homogène sans facteur pronostique péjoratif, notamment en lien avec une rechute ou une transformation de lymphome de bas grade sous-jacent<sup>85</sup>.

### **2.2.2 Critères d'exclusion**

Plusieurs critères d'exclusion ont été retenus : une infection par le VIH, le virus de l'hépatite B ou C ; le diagnostic des lymphomes médiastinaux, oculo-cérébraux, intravasculaires ; enfin le diagnostic du lymphome dans un contexte d'immunosuppression (post transplantation d'organe ou post allogreffe) ou le diagnostic d'un lymphome associé à l'EBV.

## 2.3 Ethique

Conformément à la législation en vigueur pour les études rétrospectives non-interventionnelles, un signalement a été fait au comité éthique local (EREC). Une demande de non-opposition a été récupérée auprès des patients.

Aucune donnée nominative n'a été communiquée à un tiers non concerné par la prise en charge du patient.

## 2.4 Caractéristiques

### 2.4.1 Données cliniques :

L'ensemble des données cliniques suivantes a été recueilli à partir des dossiers des patients : l'âge au moment du diagnostic, le sexe, le *performans status* au moment du diagnostic.

Sur le plan biologique, le taux de LDH lors du diagnostic a été recherché.

Après évaluation initiale de la maladie par TEP (Tomographie par Emission de Positron) ou TDM (tomodensitométrie) dans les cas où la TEP n'était pas disponible, on a identifié le stade d'Ann Arbor du lymphome, le nombre de localisations extranodales et la présence de bulk (défini par une masse tumorale supérieure à 7 cm au plus grand diamètre)<sup>86</sup>. L'ensemble de ces données a permis de calculer le score IPI (Index Pronostic International)<sup>31</sup>.

Pour les patients qui ont été pris en charge dans un autre centre dans les deux ans de suivi de fin de traitement, un courrier des dernières nouvelles a été récupéré.

### 2.4.2 Données histologiques et cytogénétiques :

Les diagnostics histologiques ont été faits selon la classification OMS 2008. Le diagnostic anatomo-pathologique au moment du diagnostic a été récupéré sur le compte-rendu dans le dossier des patients pour les diagnostics réalisés hors du centre, et sur le logiciel anatomo-pathologique pour les diagnostics réalisés au sein du CHRU de Tours.

### 2.4.3 Données immunohistochimiques

Une analyse immunohistochimique a été réalisée au diagnostic, utilisant les marqueurs CD10, BCL6, BCL2 et MYC. Les marqueurs CD10, BCL6 et MUM1 ont permis de classer les LBDGC en lymphomes de type GC ou non-GC selon l'algorithme de Hans<sup>18</sup>. Des marquages à posteriori ont été réalisés uniquement pour les patients avec lymphome double-hit.

L'immuno-marquage de la protéine MYC a été mis en place à partir des années 2012-2013 dans le service d'anatomo-pathologie du CHRU. Les données manquantes peuvent être dues

soit à une quantité de matériel insuffisante (ponction biopsie), soit à une fixation de qualité médiocre, soit du fait de la réalisation de la biopsie dans un autre centre.

Dans le laboratoire d'anatomo-pathologie de Tours, le seuil positif d'expression des protéines BCL6 et MUM1 est supérieur ou égal à 30% et celui de BCL2 à 40%. Pour MYC, nous avons retenu le seuil d'expression de 40%<sup>46</sup>.

La technique d'immunohistochimie a été effectuée sur un automate Benchmark XT (Roche) avec le kit de détection Ultraview sur des coupes paraffinées de 4µm.

#### **2.4.4 Données cytogénétiques**

L'étude des réarrangements des gènes *MYC*, *BCL2* et *BCL6* a été faite par la technique de FISH (*hybridation in situ en fluorescence*) au moment du diagnostic initial ou lors du diagnostic de rechute au laboratoire de cytogénétique du CHRU de Tours. Nous avons utilisé les données obtenues à l'issue du diagnostic ainsi que des données réalisées à posteriori pour une étude rétrospective antérieure, dans un travail du Dr Hammouche du laboratoire de cytogénétique.

La technique de FISH a été réalisée sur lame d'apposition de prélèvement congelé ou frais.

Le réarrangement *MYC* a été recherché à l'aide de la sonde de break apart (en 8q24) (Métasystems®). En cas de positivité, les sondes suivantes ont été utilisées : sonde double fusion *MYC/IGH* (en 8q24 et 14q32) (Cytocell®) pour rechercher le réarrangement du proto-oncogène avec le gène *IGH*, la sonde break apart *BCL6* (en 3q27.3) (Cytocell®) et la sonde break apart *BCL2* (en 18q21) (Cytocell®) ou la sonde de double fusion *BCL2/IGH* (en 18q21 et 14q32) (Cytocell®).

La présence d'un réarrangement de *MYC* définissait les lymphomes simple-hit. Les lymphomes double-hit étaient définis par la présence de réarrangement *MYC* et *BCL2* ou *MYC* et *BCL6* ou triple-hit, à savoir présence de réarrangements des 3 gènes de manière concomitante.

L'interprétation des lames se fait par lecture au microscope. Pour les sondes break apart, le signal vert doit être distinct du rouge pour que le résultat soit considéré comme positif et conclure au réarrangement du gène (le seuil de positivité est fixé à 3%). La présence de spots jaunes (juxtaposition d'un spot jaune et un spot vert) représente une cellule normale sans réarrangement génique. Les sondes double fusion sont positives lorsqu'on observe la présence de 2 spots jaunes témoignant de la fusion entre les 2 gènes, d'un spot rouge et d'un spot jaune pour les gènes non réarrangés (le seuil de positivité de ces sondes est de 1% des noyaux).

## 2.5 Traitements reçus et réponse au traitement :

### 2.5.1 Traitements reçus

Pour les patients présentant un LBDGC, NOS *de novo*, en cas d'absence de contre-indication aux anthracyclines, l'attitude du service est de traiter par immuno-chimiothérapie de type R-CHOP (rituximab, cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et prednisone). En cas de contre-indication aux anthracyclines, un traitement par R-DHAP (rituximab, dexaméthasone, aracytine haute dose, cisplatine) est proposé.

En cas de facteurs de risque méningé<sup>29,87,88</sup>, l'ajout de chimiothérapie par méthotrexate à forte dose ou traitement par injection intrathécale (par méthotrexate, dépomédrol et aracytine) est proposé. Dans notre service, les facteurs de risque d'atteinte méningée en rechute sont : les localisations sinusiennes, épidurales, surrenaliennes, osseuses, testiculaires, mammaires et médullaires<sup>88</sup>.

Pour les patients ayant une masse bulky, une chimiothérapie de type COP de *debulking* pouvait être proposée. Un traitement par radiothérapie complémentaire en clôture du traitement était indiqué pour certains patients avec une masse bulky au diagnostic, en suivant la proposition de la RCP.

En ce qui concerne les lymphomes double et triple-hit, ainsi que les lymphomes double-expresser, l'attitude thérapeutique au sein du service n'est pas encore définitive. Des chimiothérapies plus intensives sont proposées, de type R-COPADEM (méthotrexate, vincristine, doxorubicine, cyclophosphamide) puis R-CYVE (aracytine, étoposide) pour les patients jeunes et R-DA-EPOCH (doses ajustées étoposide, prednisone, vincristine, cyclophosphamide et doxorubicine) pour les patients plus âgés. L'intensification thérapeutique suivie par une autogreffe de CSP est envisagée en cas d'obtention d'une réponse complète au traitement pour les patients âgés de moins de 65 ans. Les patients recevaient une chimiothérapie intensive de conditionnement par BEAM (carmustine, étoposide, aracytine, melphalan) ou BAM. En raison de pénurie temporaire de carmustine, celle-ci a été remplacée par de la bendamustine (LEAM). Un conditionnement pour une rechute cérébrale a été réalisé par busulfan-thiotépa.

Les traitements de rattrapage en cas de maladie réfractaire ou en cas de rechute étaient discutés pour chaque patient en RCP. Les protocoles utilisés dépendaient de l'état du patient et des caractéristiques du lymphome à la rechute. En cas de prise en charge curative, les chimiothérapies proposées étaient : R-ICE (rituximab, ifosfamide, carboplatine et étoposide),



R-IE (rituximab, ifosfamide, étoposide), R-GEMOX (gemcitabine et oxaliplatine), R-ESHAP (étoposide, méthylprednisolone, aracytine, cisplatine), ou protocole de radio-chimiothérapie concomitante (VP16-aracytine), et en cas de rechute neuro-méningée R-MBVP (rituximab, méthotrexate, vincristine, procarbazine). Pour la prise en charge palliative, la chimiothérapie per os de type CEP (cyclophosphamide, étoposide, prednisone) était proposée.

### **2.5.2 Evaluation de la réponse thérapeutique**

La réponse au traitement a été évaluée en imagerie par TDM et TEP selon le choix du praticien. La réponse au traitement est définie par les critères de Cheson 2007<sup>89</sup> et par les critères de Deauville<sup>90</sup>.

Les réponses ont été collectées à partir des comptes-rendus des radiologues dans le dossier du patient et selon l'évaluation de l'hématologue. Il n'y a pas eu de relecture centralisée.

Une évaluation intermédiaire a été réalisée après 3 à 4 cures lors de la première ligne de traitement d'induction et en fin de traitement.

En cas de réponse partielle à la suite de la première ligne d'induction, une évaluation intermédiaire après les deux cures de rattrapage a été faite.

En cas d'intensification thérapeutique suivie d'autogreffe de CSP, une évaluation de la réponse thérapeutique a été faite avant l'intensification thérapeutique.

## **2.6 Analyse statistique :**

La comparaison des caractéristiques cliniques et paracliniques des différents groupes de patients aurait pu être réalisée par le test du CHI2 et le test exact de Fisher mais le nombre de patients nous a paru trop faible pour qu'ils soient réellement significatifs.

La survie sans progression (SSP) a été définie comme le temps qui s'est écoulé entre la date de diagnostic et la date de progression, de rechute, de changement de ligne de traitement pour la maladie persistante ou la date du décès quelle qu'en soit la cause. Les traitements de consolidation par intensification et autogreffe de CSP ou radiothérapie pour des patients ayant obtenu une réponse au traitement n'étaient pas considérés comme un événement.

La survie globale (SG) a été définie comme la durée entre la date de diagnostic et la date de décès toutes causes confondues ou la date des dernières nouvelles. Les patients non décédés à la date des dernières nouvelles ont été censurés.

Les courbes de SG et la SSP ont été calculées par la méthode de Kaplan-Meier.

La comparaison statistique des SG et SSP a été faite par test du log rank. Les valeurs sont exprimées par la médiane [minimum-maximum].

Les résultats étaient considérés comme significatifs pour une valeur de  $p < 0.05$ .

Le logiciel IIBM SPSS 16.0 a été utilisé pour la réalisation des tests statistiques et des courbes de survie.

# 3 RESULTATS

## 3.1 Caractéristiques des groupes

### 3.1.1 Identification des groupes

L'identification des groupes est décrite dans le flow chart (cf figure 15 et 16).

Le nombre de patients identifiés au départ à partir des fiches de RCP de la Région Centre et de la base de données du service d'anatomopathologie traités pour un LBDGC entre 2012 et 2015 était de 324. En retirant les dossiers de patients présents en double, il est resté 287 patients.

Parmi ces 287 patients, 252 sont exclus (voir figure 13) : 11 patients présentent un lymphome secondaire à une transplantation ou lié au VIH ou EBV, 16 patients présentaient un LBDGC médiastinal, 34 patients présentaient un LBDGC de localisation oculo-cérébrale, 2 patients présentaient un lymphome de type-jambe (*leg-type*), 4 patients présentaient un diagnostic autre (lymphome angio-immunoblastique, lymphome T ou lymphome intravasculaire), 52 patients présentaient un lymphome transformé issu de lymphome de bas grade (30 lymphomes folliculaires, 7 lymphomes de la zone marginale ou MALT, 7 LLC ou lymphomes lymphocytiques, 2 maladies de Waldenström et 6 non spécifiés) et 1 patient présentant un lymphome B intermédiaire entre Burkitt et LBDGC.

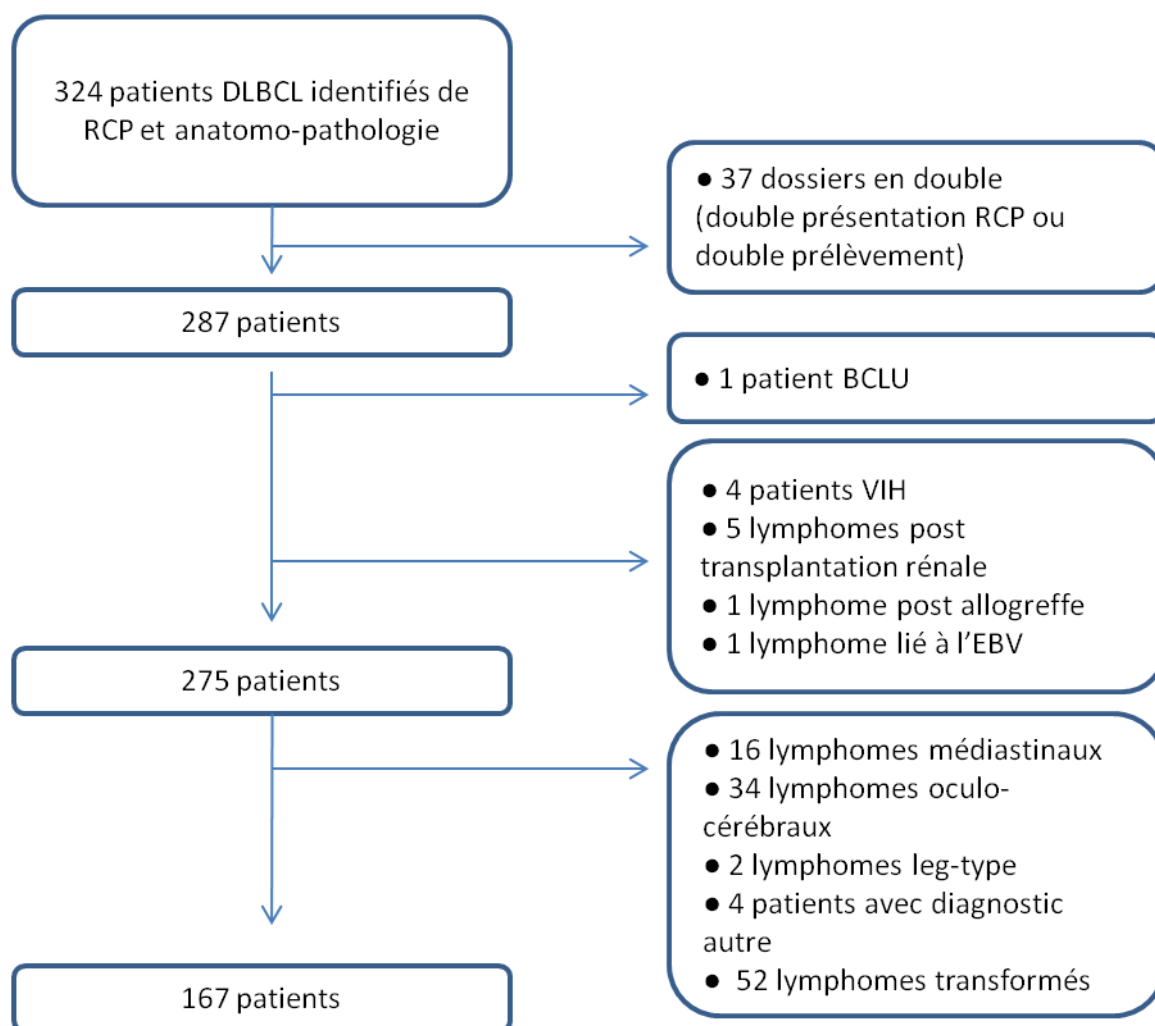


Figure 15: Flow chart : sélection des patients : première partie

On identifie 6 patients présentant un double réarrangement *MYC/BCL2* et/ou *BCL6* qui sont intégrés au groupe des lymphomes double-hit.

Les dossiers des 161 patients présentant un LBDGC *de novo* ont été de nouveau étudiés. Nous avons exclu : les 75 patients qui étaient âgés de plus de 70 ans, les 12 patients qui ont eu un traitement d'emblée à visée palliative, les 18 patients qui présentaient des informations manquantes et les 22 patients qui présentaient un lymphome de stade I (voir figure 13).

Parmi les 34 patients LBDGC, les patients ont été classés entre le groupe des LBDGC, NOS *de novo* et le groupe des LBDGC, double-expresser selon leur statut défini par l'immunohistochimie. Un patient a été exclu car il s'agissait d'un diagnostic de rechute (le diagnostic initial ayant été posé il y a plus de 10 ans).

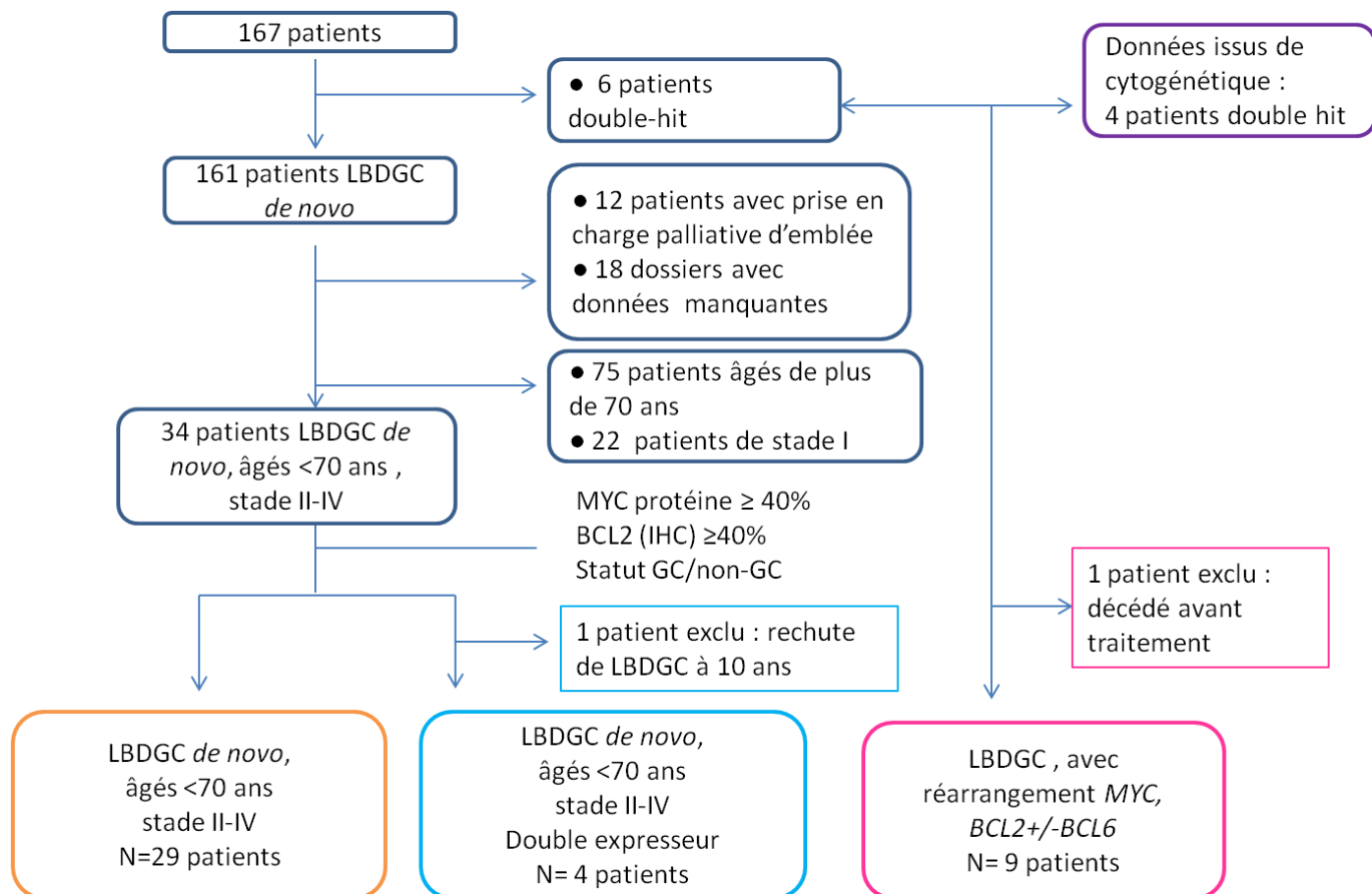


Figure 16: Flow chart : sélection des patients deuxième partie

Six patients LBDGC double-hit sont identifiés initialement. Ensuite l'identification des patients avec réarrangement double hit a été complétée en recroisant la liste initiale avec les résultats du laboratoire de cytogénétique sur la même période de 2012 à 2015. Quatre patients supplémentaires présentant un LBDGC double ou triple-hit ont été identifiés. Un patient est exclu car il est décédé de complication (hémorragie digestive) avant le début de tout traitement.

Au total 9 patients LBDGC double-hit sont identifiés.

Nous avons finalement retenu 42 patients qui constituent 3 groupes :

- le groupe d'intérêt de 9 patients présentant un LBDGC avec double réarrangement *MYC BCL2* et/ou *BCL6* (groupe1)

- un groupe de 4 patients LBDGC double-expresser âgés de moins de 70 ans, de stade II à IV (groupe 2)
- un groupe comparateur de 29 patients avec LBDGC, NOS *de novo*, âgés de moins de 70 ans, de stade II à IV (groupe 3)

### 3.1.2 Caractéristiques cliniques et biologiques lors du diagnostic

Les caractéristiques cliniques sont regroupées dans le tableau 5. La médiane d'âge des 42 patients est de 61 ans [25-75]. 16 patients (38%) étaient de sexe féminin, sexe ratio (1 :3).

L'âge médian des patients de chaque groupe est de : 63 ans [55-75] pour le groupe LBDGC double-hit, 58 ans [43-65] pour le groupe LBDGC double-expresser et 61 ans [25-70] pour le groupe LBDGC, NOS *de novo*. La répartition de femmes est de : 6 patients sur 9 dans le groupe 1, 2 patients sur 4 dans le groupe 2 et 8 patients sur 21 dans le groupe 3.

Au moment du diagnostic, le *performans status*  $\geq 2$  est retrouvé chez : 2 patients du groupe 1, un patient du groupe 2 et 4 patients du groupe 3. On retrouvait un stade disséminé (III ou IV) chez 8 patients du groupe 1, 2 patients du groupe 2 et 25 patients du groupe 3.

Parmi les 22 patients présentant au moins deux localisations extra-nodales, on retrouvait 5 patients dans le groupe double hit, un patient dans le groupe double-expresser et 16 patients dans le groupe LBDGC, NOS *de novo*.

Une masse bulky était présente chez 14 patients au total, dont 3 patients dans le groupe 1, 3 patients dans le groupe 2 et 8 patients dans le groupe 3.

L'atteinte médullaire est recherchée par biopsie ostéoméduleuse ou myélogramme. Les patients qui avaient une atteinte médullaire sur le TEP ou localisation osseuse n'ont pas fait l'objet d'une recherche systématique de l'atteinte médullaire. Au total 12 patients ont eu une évaluation médullaire. Elle a été retrouvée chez 3 patients dans le groupe 1 et un patient dans le groupe 3.

L'atteinte du système nerveux central a été recherchée pour 19 patients au total : 8 patients dans le groupe 1, un patient dans le groupe 2 et 10 patients dans le groupe 3. Aucune atteinte n'a été identifiée au diagnostic.

Concernant la biologie, on retrouvait un taux de LDH supérieur à la normale chez tous les patients du groupe 1 avec un taux médian de 1080 UI/L [425-6711], chez 2 patients du groupe 2 avec un taux médian de 598 UI/L [281-1618] et chez 24 patients du groupe 3 avec un taux médian de 615 UI/L [317-5217]. On retrouvait un score IPI élevé (score 3 à 5) pour 8 patients du groupe 1, 3 patients du groupe 2 et 18 patients du groupe 3.

Caractéristiques	LBDGC double-Hit Groupe 1 N=9	LBDGC double- expresseur Groupe 2 N=4	LBDGC, NOS Groupe 3 N=29
Age : médiane [range] ≤60 ans	63 [55-75] 4 (44%)	58 [43-65] 3 (75%)	61 [25-70] 14 (48%)
Sexe (%) Féminin	6 (67%)	2 (50%)	8 (28%)
<i>Performans status</i> (%) ≥ 2	2 (22%)	1(25%)	4 (14%)
Stade Ann Arbor I II III IV ≥ III (%)	0 1 1 7 8 (89%)	0 2 1 1 2 (50%)	0 4 7 18 25 (86%)
Localisation extranodale (%) ≥ 2	5 (56%)	1 (25%)	16 (55%)
Bulk (>7cm) présence	3 (33%)	3 (75%)	8 (28%)
Localisation médullaire Myélo ou BOM n/n'	3/7	0/1	1/ 4
Localisation SNC PL n/n'	0/8	0/1	0/10
Taux LDH n/n' ≥ Normale	9/9	2/4	24/28
IPI (%) 0-1-2 3-4-5	1 (11%) 8 (89%)	1 (25%) 3 (75%)	11 (34%) 18 (62%)
Légende : LBDGC : lymphome B diffus à grandes cellules, NOS : <i>not otherwise specified</i> , BOM : biopsie ostéo-médullaire, SNC : système nerveux central, LDH : lactate déshydrogénase, IPI : index pronostic international, n: nb de cas positif, n' : nombre de cas évaluable			

Tableau 3: Caractéristiques cliniques et biologiques des patients au diagnostic

### 3.1.3 Caractéristiques anatomo-pathologiques lors du diagnostic

Ces caractéristiques sont résumées dans le tableau 4.

Dans le groupe LBDGC double-hit, 2 patients avaient une transformation d'un lymphome de bas grade (un patient avec lymphome folliculaire et un patient avec un lymphome lymphocytaire).

Parmi l'ensemble de la cohorte (n=42), le statut CG ou non-CG a été étudié pour 36 patients (tous les patients des groupes 1 et 2, et 23 patients du groupe 3). Au total, 21 patients avaient un statut de type GC, dont 8 patients dans le groupe 1, 3 patients dans le groupe 2 et 10 patients dans le groupe 3.

L'index de prolifération Ki67 ou MIB1 a été étudié dans 30 cas, dont 7 patients dans le groupe 1, tous les patients du groupe 2 et 19 patients du groupe 3. La médiane du taux de prolifération est de 80% [70%-100%] dans le groupe 1, de 83% [80%-100%] dans le groupe 2 et de 73% [30%-95%] dans le groupe 3. Lorsque l'on fixe un seuil de cet index  $\geq 90\%$ , 3 patients du groupe 1, un patient du groupe 2 et 3 patients du groupe 3 sont positifs. Considérant le seuil de cet index  $\geq 95\%$ , on retrouve 2 patients dans le groupe 1, un patient dans le groupe 2 et 2 patients dans le groupe 3 comme positifs.

L'expression de la protéine MYC a été recherchée chez 23 patients, soit tous les patients des groupes 1 et 2 et chez 10 patients du groupe 3. L'expression de la protéine (en prenant un seuil  $\geq 40\%$ ) est retrouvée chez 8 patients (89%) du groupe 1, tous les patients (100%) du groupe 2 et chez aucun patient du groupe 3. L'expression de la protéine BCL2 a été recherchée chez 36 patients soit tous les patients des groupes 1 et 2 et chez 23 patients du groupe 3. Un taux d'expression de la protéine BCL2  $\geq 50\%$  est retrouvé chez 8 patients (89%) double-hit, tous les patients double-expresser (100%) et 13 patients LBDGC, NOS *de novo* (52%).

L'expression de la protéine BCL6 a été recherchée chez 31 patients soit tous les patients des groupes 1 et 2, et chez 18 patients du groupe 3. Elle est observée chez 7 patients (78%) du groupe 1, 3 patients du groupe 2 (75%) et 13 patients (72.2%) du groupe 3.

Dans le groupe 1, 6 patients présentent une double expression MYC/BCL2 et 2 patients une triple expression MYC/BCL2/BCL6. Dans le groupe 2, un patient présente une double expression MYC / BCL2 et 3 patients présentent une triple expression MYC/BCL2/BCL6.



Caractéristiques	LBDGC double-Hit Groupe 1 N=9	LBDGC double-expresser Groupe 2 N=4	LBDGC, NOS Groupe 3 N=29
Diagnostic	LBDGC	LBDGC	LBDGC
Lymphome de bas grade sous jacent	1 Lymphome folliculaire 1 lymphome lymphocytaire	N/A	N/A
Statut GC <sup>(1)</sup>	8	3	10
non-GC	1	1	13
Cas disponibles	9	4	23
Taux de prolifération			
Moyenne [ ]	83%	86%	70%
Médiane [range]	80% [70%-100%]	83% [80%-100%]	73% [30%-95%]
Ki67% ou MIB-1 ≥90%	3	1	3
≥95%	2	1	2
Cas disponibles	7	4	19
IHC			
CMYC ≥ 40%	8/9	4/4	0/10
BCL2 ≥ 40%	8/9	4/4	13/23
BCL6 positif	7/9	3/4	13/18
Double expresser	6/9	1/4	0
Triple expresser	2/9	3/4	0
Cytogénétique			
CMYC	9/9	0/2	0/4
CMYC-IGH	4		
CMYC-NON IGH	2		
BCL2	8/9	0/2	0/2
BCL6	2/9	0/2	0/2
Lymphome double hit			
CMYC/BCL2	7		
CMYC/BCL6	1		
Triple hit	1		
Légende : LBDGC : lymphome B diffus à grandes cellules, NOS : <i>not otherwise specified</i> , GC : Centre Germinatif, IHC : immuno-histochimie, IGH : gène des chaînes lourdes des immunoglobulines (1) : statut GC, non GC évalué selon l'algorithme de HANS, IHC			

Tableau 4: Caractéristiques histologiques et cytogénétiques au diagnostic

### 3.1.4 Caractéristiques cytogénétiques des patients lors du diagnostic

L'étude de caryotype est réalisée chez 2 patients du groupe 1, et dans les 2 cas le caryotype s'est révélé complexe. On retrouve une trisomie *BCL6* pour l'un des patients et une translocation t(8;14) associée à une 2<sup>ème</sup> translocation non identifiée.

La recherche de réarrangement cytogénétique a été réalisée pour 15 patients : 9 patients du groupe 1, 2 patients du groupe 2 et 4 patients du groupe 3 (détaillé dans le tableau 6).

Dans le groupe double hit, 7 patients présentaient un double réarrangement *MYC* et *BCL2*, un patient présentait un réarrangement *MYC* et *BCL6* et un patient présentait un triple réarrangement *MYC*, *BCL2* et *BCL6*.

L'identification du partenaire de réarrangement du gène *MYC* a été recherchée de manière rétrospective dans le groupe de lymphomes double-hit. 4 patients présentaient un réarrangement avec le gène *IG* et 2 patients présentaient un réarrangement avec un gène *non-IG*.

La recherche cytogénétique a été faite pour 2 patients du groupe 2 et 4 patients du groupe 3. On ne retrouvait aucun réarrangement pour les patients dans ces 2 derniers groupes.

Au vu des faibles effectifs, nous n'avons pas réalisé de test comparatif entre les groupes pour chaque caractéristique.

## 3.2 Traitements et réponses aux traitements

### 3.2.1 Traitements et réponse de 1<sup>ère</sup> ligne

Les traitements reçus en première ligne sont présentés dans le tableau 5

Dans le groupe 1, 8 patients ont reçu un traitement par immuno-chimiothérapie intensive : 2 patients ont été traités par du R-CHOP-Méthotrexate, 4 patients par R-DA-EPOCH, et 2 patients par R-COPADEM. Le dernier patient du groupe 1 a reçu un traitement par R-CHOP, car le diagnostic de lymphome double-hit était inconnu au moment de la décision thérapeutique.

Dans le groupe 2, 2 patients ont reçu le traitement standard par R-CHOP, un patient par R-DHAP et un patient a reçu un traitement intensif par R-CHOP-Méthotrexate.

Dans le groupe 3 : 23 patients ont eu un traitement par R-CHOP, un patient R-DHAP, 4 patients R-CHOP-Méthotrexate (en prophylaxie neuroméningée) et un patient par R-COPADEM (devant une présentation clinique agressive et suspicion clinique de lymphome double-hit).

Détails traitements		LBDGC double hit N=9	LBDGC double expresseur N=4	LBDGC NOS N=29
Traitement standard	RCHOP	1	2	23
	RDHAP	0	1	1
Traitement intensif	RCHOP MTHX	2	1	4
	RDAEPOCH	4	0	0
	RCOPADEM	2	0	1

Légende : LBDGC : lymphome B diffus à grandes cellules, NOS : *not otherwise specified* , MTHX : méthotrexate

Tableau 5: Détail des traitements intensifs et standards de première ligne

Radiothérapie : 3 patients ont reçu de la radiothérapie en clôture pour une forte masse, dans le groupe 3.

L'intensification thérapeutique avec autogreffe de CSP en 1<sup>ère</sup> ligne est réalisée pour 2 patients du groupe 1, aucun patient dans les groupes 2 et 3 (cf tableau 6).

		LBDGC double hit n=9	LBDGC Double expresseur n=4	LBDGC NOS n=29
ASCT		3 /9	0/4	3 /29
	1 <sup>ère</sup> ligne	2		
	2 <sup>ème</sup> ligne			1
	3 <sup>ème</sup> ligne			1
	4 <sup>ème</sup> ligne	1		
	Rechute			1
Légende : LBDGC : lymphome B diffus à grandes cellules, NOS : <i>not otherwise specified</i> , ASCT : autogreffe de cellules souches				

Tableau 6: Détail du traitement par autogreffe

Considérons les réponses obtenues à l'issue de la première ligne de traitement (voir tableau 7) : on observe que 31 patients ont obtenu une réponse de type RC ou très bonne réponse partielle (TBRP) (27 RC et 3 TBRP).

Le taux de réponse (complète ou TBRP) est de 56% (5 patients) dans le groupe 1, 50% (2 patients) dans le groupe 2 et 79% (23 patients) dans le groupe 3.

La réponse partielle est observée chez 3 patients (33%) du groupe 1, un patient (25%) du groupe 2 et 3 patients (10%) du groupe 3.

Un patient (11%) a présenté une stabilité du lymphome après la 1<sup>ère</sup> ligne dans le groupe 1 et 2 patients (7%) dans le groupe 3. La progression du lymphome est observée chez un patient (25%) du groupe 2 et un patient (3,4%) du groupe 3.

Taux de réponse		LBDGC double-hit Groupe 1 N=9	LBDGC double- expreseur Groupe 2 N=4	LBDGC NOS Groupe 3 N=29
Taux de réponse globale (RC et RP)	Traitement intensif	7/8	1/1	4/5
	Traitement Standart	1/1	1/3	22/24
Taux de réponse complète	Traitement intensif	4/8	1/1	4/5
	Traitement Standart	1/1	1/3	19/24
Légende : LBDGC : lymphome B diffus à grandes cellules, NOS : <i>not otherwise specified</i> , RC : réponse complète, RP : réponse partielle n: nb de cas positif, n' : nombre de cas évaluable				

Tableau 7: Réponse obtenue à l'issue de la première ligne selon le type de traitement

### 3.2.2 Prise en charge des patients en réponse partielle

Dans le groupe 1, 3 patients en RP ont reçu un traitement de 2<sup>ème</sup> ligne comprenant comme chimiothérapie R-DHAP, R-DHAOX ou R-GEMOX. Le premier patient en réponse thérapeutique complète à l'issue d'une 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> ligne thérapeutique (par R-ICE et R-GEMOX) a eu une autogreffe de CSP après intensification par LEAM. Il a rechuté à 5 mois.

Un patient en RP est en maladie progressive malgré la chimiothérapie de 2<sup>ème</sup> ligne et a reçu en 3<sup>ème</sup> ligne un traitement palliatif par CEP. Le troisième patient en RP avait été traité par autogreffe en 1<sup>ère</sup> ligne, devant la persistance de la réponse partielle à l'issue de l'autogreffe, il a reçu un traitement de 2<sup>ème</sup> ligne à 3 mois par RDHAP puis radio-chimiothérapie concomitante avec progression de la maladie.

Dans le groupe 2, le patient en RP a reçu une deuxième ligne thérapeutique par R-COEP. La maladie est restée progressive malgré une 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> ligne thérapeutique par R-GEMOX puis CEP.

Dans le groupe 3, les 3 patients sont en RP. Un patient a reçu une 2<sup>ème</sup> ligne de traitement par R-IE et les 2 autres patients ont reçu un traitement par R-DHAP. Au total 2 patients ont obtenu une RC après la 2<sup>ème</sup> ligne de chimiothérapie par R-IE et R-DHAP, le patient âgé de moins de 65 ans pour qui la collecte de CSP a pu être réalisée, a reçu une autogreffe de CSP après intensification par BEAM.

Le dernier patient en RP a reçu une 3<sup>ème</sup> ligne type R-RDAEPOCH, il a eu le statut de RP et a reçu une autogreffe après intensification par BEAM avec réponse complète en fin de traitement.

Les traitements et réponses des patients sont détaillés dans la figure 17.

### **3.2.3 Prise en charge de rechute et réfractaire**

Sur la médiane de suivi de 8,55 mois [5-24,12], 4 patients ont rechuté. Un patient de groupe 1, aucun patient du groupe 2 et 3 patients dans le groupe 3. Parmi ces 4 patients en rechute, un patient a présenté une rechute précoce à moins de 6 mois, il est donc considéré comme réfractaire. La prise en charge de ce patient avec lymphome double-hit a été décrite précédemment. Les 3 patients du groupe 3 en rechute avaient obtenu une RC après leur 1<sup>ère</sup> ligne. Le délai médian de rechute est de 8,47 mois [6,01-13,30]. Ces 3 patients avaient reçu un traitement de 1<sup>ère</sup> ligne standard par RCHOP. Une rechute était de localisation cérébrale isolée, survenue à 13,31 mois de la RC1. Le traitement de 1<sup>ère</sup> ligne comprenait une prophylaxie méningée par 4 ponctions lombaires associée au R-CHOP. Il présentait au diagnostic un stade disséminé (stade IV), avec localisations extra-ganglionnaires multiples (pulmonaires et osseuses), un score IPI à 4. Le traitement de rattrapage a été fait par RMVP, 2 cures seulement en raison d'une toxicité rénale, puis aracytine forte dose permettant l'obtention d'une RC, avec intensification thérapeutique par Busulfan-Thiotépa et autogreffe de CSP. Le patient est en RC et vivant à la date des dernières nouvelles.

Les 2 autres patients ont reçu du R-DHAP en 2<sup>ème</sup> ligne, puis Revlimid-CEP et radiochimiothérapie par VP16-aracytine en 3<sup>ème</sup> ligne et CEP pour un des patients en 4<sup>ème</sup> ligne. Les patients sont restés réfractaires à l'issue des différentes lignes de traitement.

Au total, 9 patients sont considérés comme réfractaires (2 en statut de maladie progressive dès la première ligne thérapeutique, 3 en statut de maladie stable dès la première ligne thérapeutique, 1 en rechute <6mois après plusieurs lignes de traitement et 4 en progression <6mois). La répartition des patients selon leur groupe et le statut de maladie est décrite ci-dessous.

Dans le groupe 1, 4 patients sont considérés comme réfractaires, le patient en statut MS n'a pas pu être traité en 2<sup>ème</sup> ligne et est décédé. Deux patients en RP après 1<sup>ère</sup> ligne ont eu 3 à 4

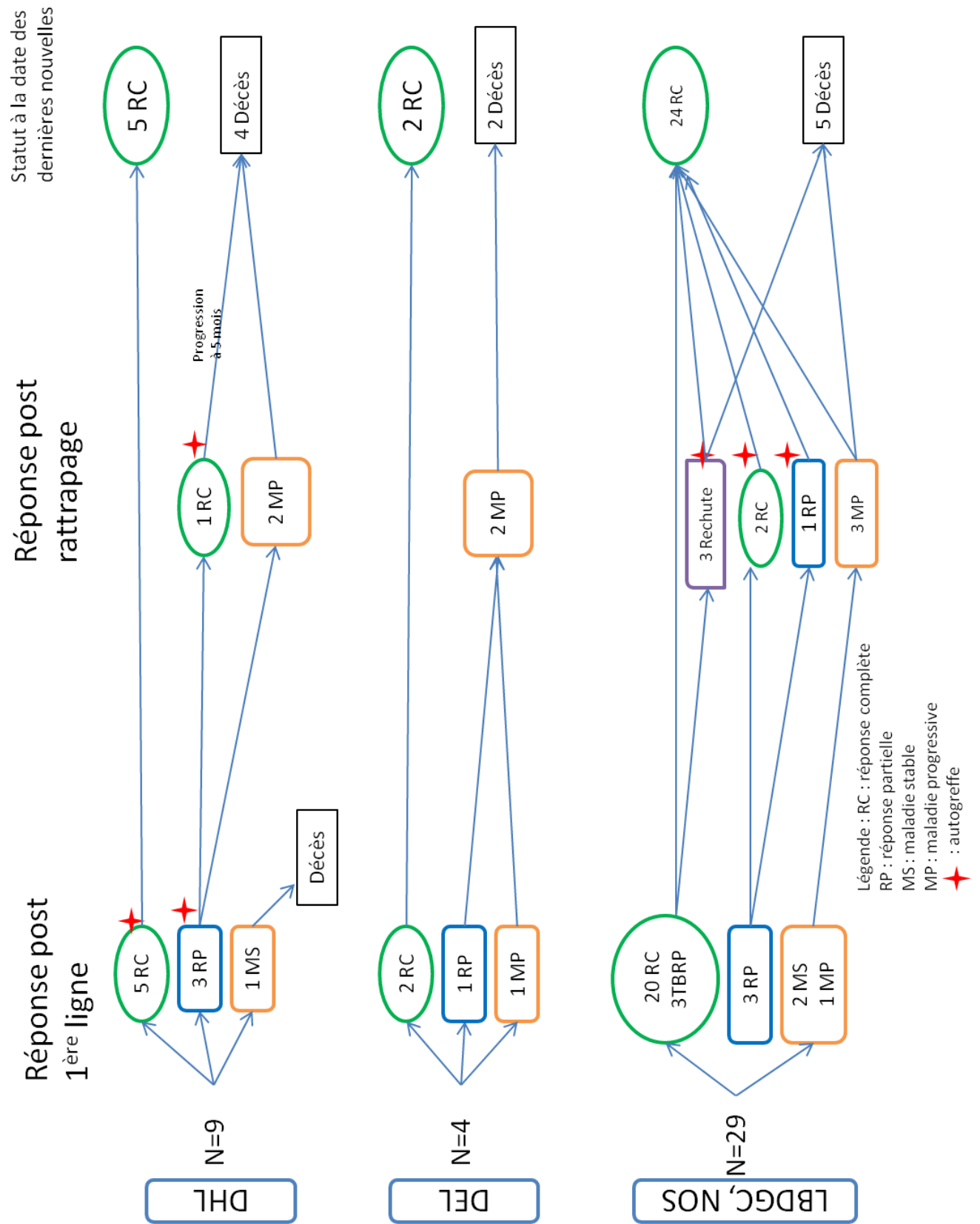


Figure 17 : Détail des traitements reçus et réponses obtenues

lignes thérapeutiques. Le lymphome est resté réfractaire et ils sont décédés. Le patient en rechute <6 mois n'a pas eu de 2<sup>ème</sup> traitement de rattrapage et est décédé.

Dans le groupe 2, un patient en MP a reçu en chimiothérapie par R-ESHAP, R-COPADEM et R-GEMOX en 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> lignes de traitement. La maladie est restée progressive et il est décédé. Le patient en réponse partielle à l'issue de la 1<sup>ère</sup> ligne est considéré comme réfractaire car il a présenté une progression de la maladie à l'issue des lignes de rattrapage.

Dans le groupe 3, trois patients sont considérés comme réfractaires : les 2 patients en MS ont reçu une chimiothérapie par R-DHAP et R-GEMOX en 2<sup>ème</sup> ligne et par CEP en 3<sup>ème</sup> ligne et sont finalement décédés. Le patient en progression à l'issue de la première ligne a reçu un traitement par R-ICE puis R-DHAP en 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> ligne. La maladie est restée progressive notamment au niveau médullaire et le patient est décédé.

Au total, le nombre médian de lignes thérapeutiques reçues par les patients réfractaires est de 3 lignes [1 à 4] dans le groupe 1, sans obtention de RC ou TBRP à l'issue de ces traitements.

Dans le groupe 2, le nombre médian de lignes thérapeutiques est de 4, sans obtention de RC ou TBRP à l'issue du traitement de rattrapage.

Dans le groupe 3, le nombre médian de lignes thérapeutiques est de 3 [2-3], sans obtention non plus de RC ou TBRP.

### **3.2.4 Mortalité et toxicité**

A la date du 1<sup>er</sup> mai 2017, 11 patients sont décédés, 8 patients de cause de progression du lymphome et 3 patients de cause inconnue. 4 patients sont décédés dans le groupe 1, 2 patients dans le groupe 2 et 5 patients dans le groupe 3. Il n'y a pas eu de décès dû à une cause toxique.

Parmi les complications des traitements. 12 patients ont présenté des complications. Les complications infectieuses décrites pour 5 patients sont 2 abcès de la marge anale, 2 infections de la chambre implantable, dont une itérative à bacille gram négatif et une bactériémie à staphylocoque sensible à la méticilline. On note également des complications hématologiques (pour 2 patients) à type de complications thrombo-emboliques (2 embolies pulmonaires avec pose de filtre cave pour un patient et 2 thromboses veineuses profondes), des complications rénales (2 insuffisances rénales liées au méthotrexate et une liée au cisplatine), un épisode de perforation digestive, 1 épisode d'encéphalite possiblement toxique.



### 3.3 Survie globale des patients

#### 3.3.1 Survie globale des patients selon les groupes

La médiane de suivi de la totalité de notre population est de 22 mois [5-58], avec une médiane de suivi pour les groupe 1 ; le groupe 2 et le groupe 3 de 19 mois, 11 mois et 25 mois, respectivement. La médiane de survie globale de la population totale est non atteinte et la SG à 2 ans est de 75%. La médiane de survie globale du groupe 1 est non atteinte, la SG à 2 ans était de 53%. La médiane de survie globale du groupe 2 est de 8 mois, la SG à 2 ans est 50%. La médiane de survie globale du groupe 3 est non atteinte, la SG à 2 ans est de 84%. Le groupe 3 présentait une tendance à une SG supérieure au groupe 1 et groupe 2 à la limite de la significativité (SG à 2 ans 53 % et 50% vs 84% p=0.052) (voir figure 3). De même l'ensemble des groupes 2 et 3 confondus ne présentait pas une SG supérieure au groupe 1 de façon significative (p=0.1) voir figure 18 et tableau 8.

Caractéristiques	LBDGC double-Hit Groupe 1 N=9	LBDGC double- expresseur Groupe 2 N=4	LBDGC, NOS Groupe 3 N=29	p
Médiane de suivie [range]	19 mois [6-34]	11 mois [7-33]	25 mois [5-58]	
SG médiane SG 2 ans	N/A 53%	8 mois 50%	N/A 84%	P=0.052
		LBDGC , NOS et DE n= 33		P=0,108
SG médiane SG 2 ans	N/A 53%	N/A 80%		
SSP médiane SSP 2 ans	N/A 56%	5 mois 50%	N/A 68%	P= 0,601
		LBDGC , NOS et DE n=33		P= 0,591
SSP médiane SSP 2 ans	N/A 56%	N/A 67%		
Légende : SG : survie globale, LBDGC : lymphome B diffus à grandes cellules, NOS : <i>not otherwise specified</i> , DE : double expresseur, N/A : non atteint				

Tableau 8: Analyse de survie globale et sans progression en univarié selon les groupes

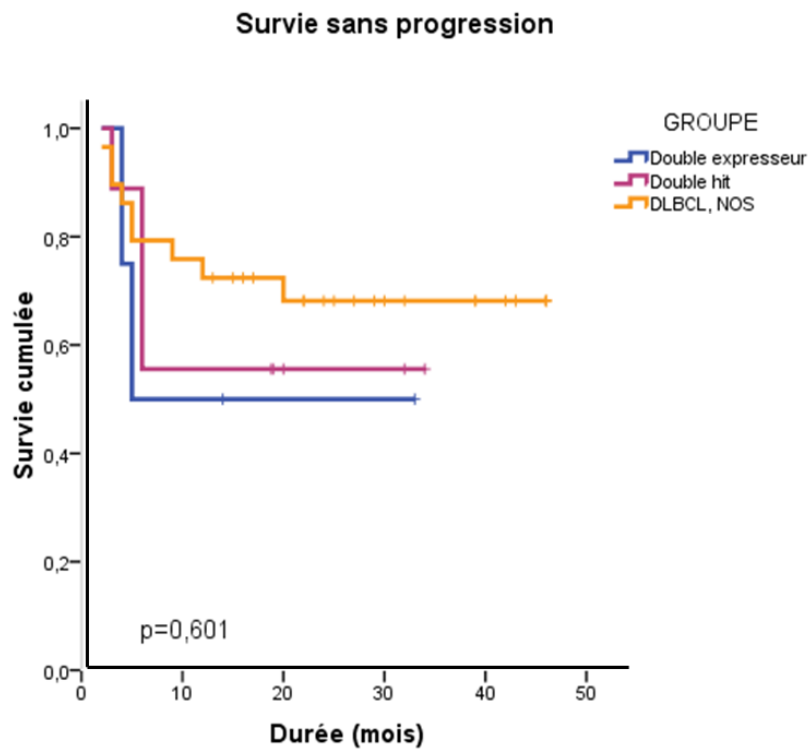
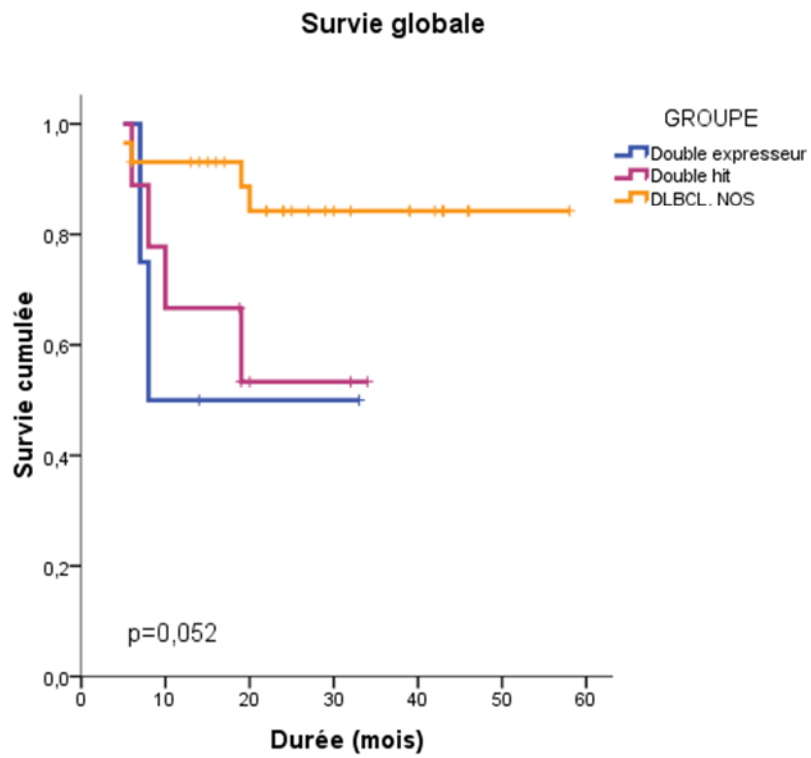


Figure 18 Survie globale et survie sans progression selon les groupes

### **3.3.2 Survie globale selon les caractéristiques cliniques et biologiques**

On ne retrouve pas de différence significative en SG selon l'âge (supérieur ou inférieur à 60ans) ( $p=0,26$ ), ni selon le *performans status*, ( $p= 0.85$ ), ni selon le stade (localisé vs disséminé  $p=0.66$ ), ou l'existence de plus d'une localisation extra-nodale ( $p=0,76$ ), ni selon le score IPI (0 à 2 vs 3 à 5  $p=0.13$ ), ni selon le taux de LDH ( $p= 0.15$ ).

### **3.3.3 Survie globale selon les caractéristiques anatomopathologiques et cytogénétiques**

Pour l'ensemble des patients, on ne retrouvait pas de différence significative de survie globale selon le statut GC versus non-GC ( $p=0.79$ ), pour un taux d'expression du Ki67  $\geq 90$  ( $p= 0.13$ ), selon l'expression de protéine BCL2 ( $p= 0.23$ ) ou selon l'expression de la protéine MYC ( $p=0.36$ ).

En revanche, la SG à 2 ans est significativement supérieure pour les patients exprimant BCL6 (SG à 2 ans 77% vs 30%,  $p=0.03$ ).

### **3.3.4 Survie globale selon les traitements et réponses aux traitements**

Les patients ayant reçu un traitement intensif n'ont pas une différence significative en terme de SG : SG à 2 ans 63% vs 80 %,  $p=0,199$ . On ne retrouvait pas de différence significative de survie dans le cas d'intensification suivis par autogreffe quelle que soit la ligne thérapeutique ( $p=0.746$ ).

Au vu du faible nombre de patients, nous n'avons pas pu étudier la survie globale des patients autogreffés selon le statut de la réponse obtenue avant intensification.

Pour les patients en réponse complète, quel que soit leur nombre de lignes thérapeutiques reçues, la SG à 2 ans est significativement supérieure (91% vs 28 %,  $p<0,0001$ ) figure 17.

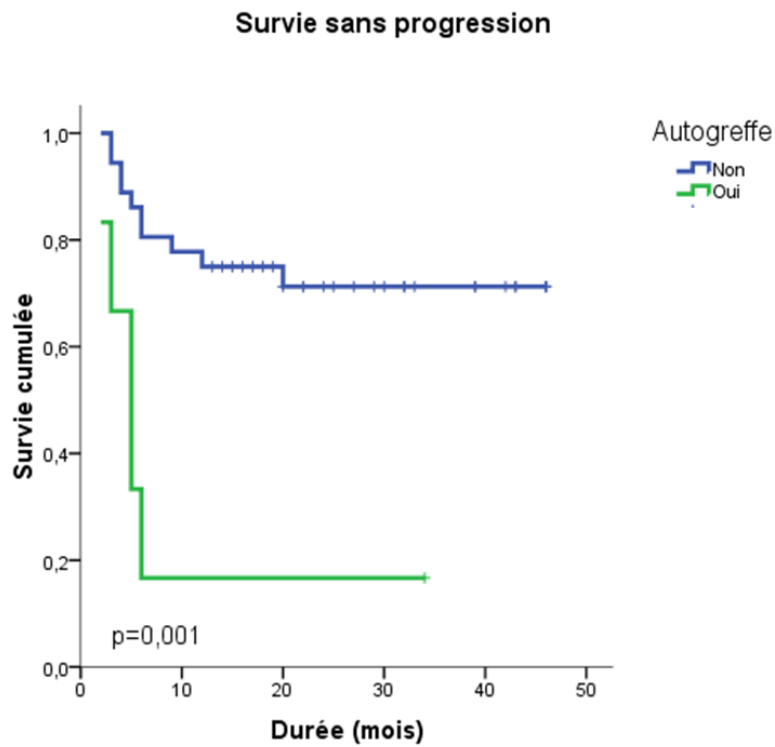
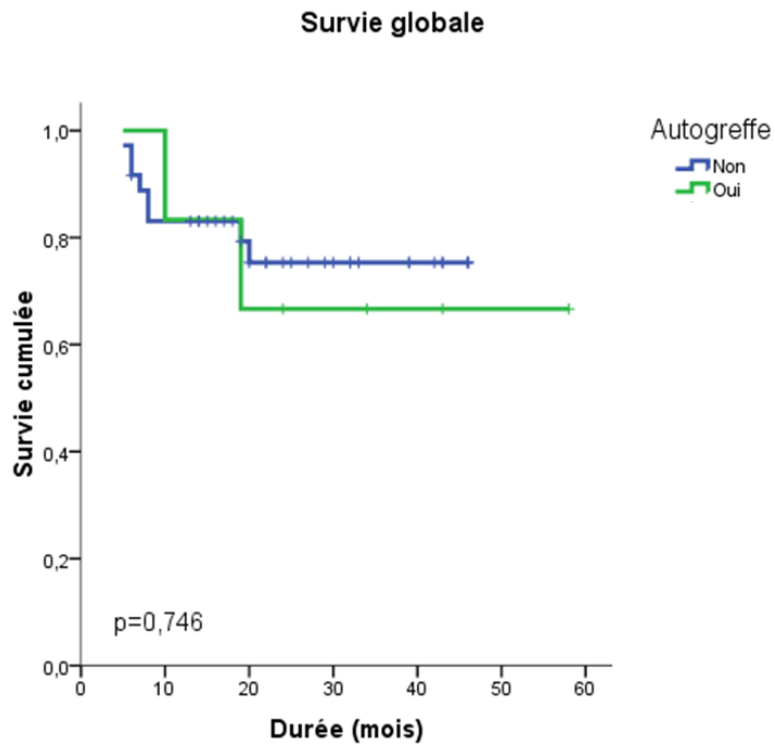


Figure 19: Survies selon l'obtention d'une réponse complète en première ligne en analyse univarié (log rank)

	SG		SSP	
	SG à 2 ans	P	SSP à 2 ans	p
Population totale	74%		72%	
Double-hit Groupe 1	53%	P=0,052	56%	P = 0.74
Double-expresser, groupe 2	50%		50%	
LBDGC NOS groupe 3	84%		68%	
LBDGC, <i>de novo</i> Groupe 2+3	80%	P=0.11	67%	P=0.59
Age <60 ans >60ans	82% 66%	P=0.26	66% 63%	P=0.96
Sexe Féminin M asculin	68% 78%	p=0.44		
<i>Performans status</i> <2 ≥2	75% 69%	P=0,85	<b>70%</b> <b>29%</b>	<b>P=0,012</b>
Stade Ann Arbor < 3 ≥ 3	72% 75%	P=0.66	71% 63%	P=0.76
Localisation extra-nodale <2 ≥ 2	80% 70%	P=0.76	80% 51%	P=0.08
LDH Normale Elevée	100% 69%	P=0.15	100% 69%	P=0.08
IPI ≤ 2 >3	88% 67%	P=0.13	77% 58%	P=0.77
Statut GC non-GC	70% 79%	P=0.7	63% 73%	P=0.73
KI67 <90% ≥ 90%	78% 57%	P=0,13	72% 19%	P=0,38
CMYC IHC <40% >40%	91% 49%	P=0.36	82% 54%	P=0.43
BCL2 IHC <50% ≥50%	76% 65%	P=0.23	76% 50%	P=0.32
BCL6 IHC Négatif Positif	30% 77%	<b>P=0.03</b>	38% 79%	P=0.11
Traitement Intensif Standard	63% 90%	P=0.199	64% 63%	P=0.989
RC Non Oui	<b>28%</b> <b>91%</b>	<b>P&lt;0.001</b>	<b>8%</b> <b>86%</b>	<b>P&lt;0,0001</b>
Autogreffe Non Oui	75% 67%	P=0,75	<b>71%</b> <b>17%</b>	<b>P=0,001</b>

Légende : LBDGC : lymphome B diffus à grandes cellules, NOS : *not otherwise specified*, SG : survie globale, SSP : survie sans progression, LDH : lactate déshydrogénase, IPI : index pronostic international, GC : Centre Germinatif, IHC : immuno-histochimie, RC : réponse complète

Tableau 9: Survie globale et survie sans progression selon les caractéristiques

## 3.4 Etude de survie sans progression en univarié

### 3.4.1 Survie sans progression selon les groupes

La médiane de survie sans progression de la population totale est non atteinte et la SSP à 2 ans est de 72%. La médiane de survie sans progression du groupe 1 est non atteinte, la SSP à 2 ans est de 56%. La médiane de survie sans progression de groupe 2 est de 5 mois, la SSP à 2 ans est 50%. La médiane de survie sans progression de groupe 3 est non atteinte, la SSP à 2 ans est de 68%.

On ne retrouve pas de différence significative en terme de SSP entre les groupe 1, 2 et 3 ( $p=0.60$ ). L'ensemble des patients des groupes 2 et 3 confondus ne présente pas non plus de différence significative en terme de SSP par rapport au groupe 1 ( $p=0.59$ )

### 3.4.2 Survie sans progression selon les caractéristiques cliniques et biologiques

Les patients avec un *performans status* conservé (PS 0 et 1) ont une SSP significativement supérieure aux patients avec un *performans status*  $\geq 2$  (SSP à 2 ans 70% vs 29 %  $p=0.012$ ).

On ne retrouve pas de différence significative de SSP de l'ensemble des groupes selon l'âge  $>60$  ans *versus*  $<60$  ans ( $p=0,96$ ), selon le stade Ann Arbor (localisé *versus* disséminé) ( $p=0,76$ ), selon l'existence de localisation extra-nodale ( $p=0,08$ ), selon le score IPI élevé ( $p=0.77$ ) ou selon le taux de LDH ( $p=0,08$ ).

### 3.4.3 Survie sans progression selon les caractéristiques anatomopathologiques et cytogénétiques

On ne retrouve pas de différence de SSP selon le statut GC ou non-GC ( $p=0,732$ ), selon Ki67 seuil à  $\geq 90$  ( $p=0,376$ ), selon l'expression de BCL2 ( $p=0,32$ ), de BCL6 ( $p=0,11$ ) ou de MYC ( $p=0,430$ ).

### 3.4.4 Survie sans progression selon traitement et réponse

On ne met pas en évidence de différence significative de SSP selon le type de traitement intensif ou standard quelle que soit la ligne thérapeutique ( $p=0,99$ ). On retrouve une différence significative de survie dans le cas d'intensification suivie par autogreffe de CSP ( $p=0.001$ ). Chez les patients en réponse complète quel que soit leur nombre de lignes thérapeutiques, la SSP à 2 ans est significativement supérieure 86% vs 8%,  $p<0,0001$ .

Nous n'avons pas pu réaliser d'études de survie comparatives intra groupe au vu des faibles effectifs.

Nous n'avons pas non plus réalisé d'analyse de survie en multivarié au vu des faibles effectifs.

## 4 DISCUSSION

Dans notre étude rétrospective, nous avons identifié 9 patients avec lymphome B diffus à grandes cellules avec réarrangement *MYC et BCL2 et/ou BCL6*. Dans cette cohorte de patients traités majoritairement de manière intensive, nous avons observé un pronostic plus péjoratif de ces lymphomes par rapport à l'ensemble des lymphomes B diffus à grandes cellules avec double expression *MYC-BCL2* et lymphomes B diffus à grandes cellules, NOS *de novo*, avec un taux de réponse complète inférieur.

Nous discuterons de la portée de ces résultats au vu des données de la littérature selon les caractéristiques cliniques, histologiques, cytogénétiques ainsi que des traitements et nous envisagerons les perspectives thérapeutiques.

### 4.1 Présentation au diagnostic

#### 4.1.1 Caractéristiques clinico-biologiques au diagnostic

##### Caractéristiques cliniques

Dans notre cohorte de patients atteints de lymphome double-hit, l'âge médian est de 63 ans. Ceci concorde avec l'étude de Oki *et al* 2014<sup>56</sup>, portant sur 129 patients avec lymphome double-hit, dans laquelle la médiane d'âge est de 62 ans, (dans cette étude, les patients étaient âgés de 18 à 85 ans). Dans l'étude de Green *et al* 2012<sup>91</sup>, la médiane d'âge est de 67 ans (patients âgés de 49 à 87 ans) pour les patients avec lymphome double-hit, de 71 ans pour les patients avec lymphome double-expresser et de 64 ans pour les patients LBDGC non double-expresser, il n'y a pas de différence d'âge significative entre les groupes, ce qui se retrouve également dans d'autres études<sup>55,92</sup>.

Notre groupe comparateur de patients LBDGC *de novo* a été sélectionné sur un âge inférieur à 70 ans, ce qui introduit un biais au niveau de ce paramètre, nous ne pouvons donc pas faire de comparaison entre nos groupes.

Dans notre population, la proportion d'hommes est de 33% dans le groupe de patients avec lymphome double-hit, 50% dans le groupe de patients avec lymphome double-expresser et 72% dans le groupe de patients LBDGC, NOS *de novo*. Selon les études, la proportion d'hommes dans le groupe de patients avec lymphome double-hit varie de 48% à 67%<sup>51,53,55-57</sup>. Il n'y a pas de différence de proportion d'hommes entre les patients atteint de LBDGC, NOS<sup>55</sup>, et les patients avec lymphome double-expresser<sup>91</sup>.



Au vu des faibles effectifs de nos cohortes, nous n'avons pas effectué de tests statistiques comparateurs.

Dans notre étude, l'état général des patients au moment du diagnostic est relativement conservé. La proportion de patients avec un *performans status*  $\geq 2$  au moment du diagnostic dans nos groupes lymphome double-hit, lymphome double-expresser et LBDGC, NOS *de novo* est respectivement de 22%, 25% et 14%. Initialement<sup>53</sup>, les lymphomes double-hit ont été décrits comme des lymphomes à présentation agressive avec une altération de l'état général variable selon les études. Les études de Oki *et al* 2014 et Petrich *et al* 2014 montrent au contraire que seuls environ 30% de patients avec lymphome double-hit présentent un état général altéré<sup>56,57</sup>. De plus, Green *et al* 2012 ne trouvent pas de différence significative sur le *performans status* entre les patients avec lymphome double-hit et les patients avec lymphome non double-hit<sup>91</sup>. En ce qui concerne les patients avec lymphome double-expresser, deux études montrent que l'état général au moment du diagnostic de ces patients est significativement plus altéré par rapport aux patients LBDGC sans double expression<sup>91,93</sup>.

Dans notre étude, 89% des patients du groupe lymphome double-hit ont un stade Arbor élevé ( $\geq 3$ ), 50% des patients du groupe lymphome double-expresser et 86% des patients du groupe LBDGC.

Les patients avec lymphome double-hit présentent un stade de lymphome étendu dans  $\approx 80\%$  des cas selon les études<sup>50-53,55-57</sup>. L'étude rétrospective portant sur 129 patients avec lymphome double-hit réalisée par le centre MD Anderson<sup>56</sup> retrouve un stade étendu chez 84% des patients avec lymphome double-hit. Green *et al* 2012<sup>91</sup> montre que la présence de stade étendu au moment du diagnostic est significativement plus fréquente dans le groupe de patients avec lymphome double-hit que dans le groupe de patients avec lymphome non double-hit (82% vs 46%  $p=0.027$ ), confirmant les résultats de Niitsu *et al* 2009, Barrans *et al* 2010<sup>50,51</sup>. A contrario, cette différence n'était pas significative dans d'autres études<sup>52,55</sup>.

En ce qui concerne les lymphomes double-expresser, Green *et al* 2012 ne retrouvent pas de différence significative concernant un stade étendu au moment du diagnostic entre les patients avec lymphome double-expresser et lymphome double-hit, ni entre les patients avec lymphome double-expresser et non double-expresser (56% vs 44%  $p=0,148$ ), alors que Hu *et al* 2013 retrouvent une différence de fréquence de stade  $\geq 3$  entre les patients avec lymphome double-expresser et lymphome non double-expresser (67% vs 43%  $P=0,001$ )<sup>91,93</sup>.

Dans notre population, 56% des patients avec lymphome double-hit, 25% des patients avec lymphome double-expresser et 55% des patients LBDGC, NOS présentent des localisations extra-nodales  $\geq 2$ .

Ceci est en accord avec le taux de localisations extra-nodales retrouvé dans les études de cohorte de lymphomes double-hit de grands effectifs à savoir, 28% pour Petrich *et al* 2014 (n=311)<sup>57</sup>, 49% pour Oki *et al* 2014 (n=129)<sup>56</sup> et 54% pour Li *et al* 2016 (n=157)<sup>94</sup>. De plus, comme dans notre étude, Pedersen *et al* 2012 ne montrent pas de différence significative dans les localisations extra-nodales entre les patients avec lymphome double-hit et les patients avec LBDGC, NOS<sup>55</sup>.

En ce qui concerne les lymphomes double-expressers, Green *et al* 2012 ne retrouvent pas de différence significative de localisations extra-nodales entre les patients avec lymphome double-expresser et les patients LBDGC, NOS (20% vs 15% p=0,395) ou entre les patients avec lymphome double-expresser et les patients avec lymphome double-hit (20% vs 27% p=0,399)<sup>91</sup>. A contrario, Hu S *et al* 2013 retrouvent une différence significative entre les patients avec lymphome double-expresser (28%) et les patients avec LBDGC, NOS (18%) p=0,0160<sup>93</sup>. Il est à noter que la population de patients avec lymphome double-expresser était plus conséquente dans l'étude de Hu *et al* 2013 (n=157) que dans l'étude de Green *et al* 2012 (n=45), ce qui peut expliquer l'absence de significativité dans l'étude de Green *et al* 2012.

Dans notre population de patients avec lymphome double-hit, 89% présentaient un score IPI intermédiaire haut/haut (score de 3 à 5) contre 75% dans le groupe de patients avec lymphome double-expresser et 62% dans le groupe de patients LBDGC, NOS de novo.

Cette proportion de patients avec un score IPI élevé parmi la population avec lymphome double-hit s'avère très variable selon les études actuellement publiées. En effet, en ce qui concerne les patients avec lymphome double-hit, l'étude de Oki *et al* 2014 (n=129) montre que la proportion de patients avec un score IPI élevé (score 4 à 5) est de 26%<sup>56</sup>. Dans l'étude de Petrich *et al* 2014 (n=311), la proportion de patients avec un score IPI haut (score 4 à 5) est de 27% et celle de patients ayant un score IPI intermédiaire haut/haut (score 3 à 5) est de 58%<sup>57</sup>. L'étude de Li *et al* 2016 (n=157) montre une proportion de patients avec un score IPI intermédiaire haut/haut (score 3-5) de 82%<sup>94</sup>.

Dans l'étude de Green *et al* 2012 portant sur 193 patients, la proportion de patients avec un score IPI élevé était plus importante dans le groupe de patients avec lymphome double-hit que

dans le groupe de patients avec lymphome non double-hit (64% vs 32% p=0.045). La différence entre les patients avec lymphome double-expresser et lymphome non double-expresser n'était pas statistiquement significative (41% vs 29% p=0,125)<sup>91</sup>. Cependant, dans l'étude de Hu *et al* 2013 portant sur un nombre de patients plus élevé, la proportion de patients avec lymphome double-expresser avec un score IPI élevé était significativement plus importante que dans le groupe de patients avec lymphome non double-expresser (49% vs 30% p=0.0001)<sup>93</sup>.

En revanche, Lansdburg *et al* 2014<sup>92</sup> ne retrouvent pas de différence significative sur les critères cliniques entre les patients avec lymphome double-hit et les patients LBDGC, NOS. Il est à noter que la population de cette étude était identifiée de manière rétrospective à partir de patients ayant eu une recherche cytogénétique et donc potentiellement avec une présentation clinique plus agressive ayant motivée la recherche de réarrangements. De plus le diagnostic de double-hit n'était pas posé uniquement par la technique de FISH mais également par la réalisation du caryotype.

### **Atteinte neuro-méningée**

La rechute ou la progression au niveau neuro-méningée des lymphomes B agressifs est rare (2% à 7%)<sup>87,95,96</sup>, mais bien souvent fatale. De ce fait, il est important d'identifier les groupes à risque au diagnostic et de réaliser un traitement prophylactique ainsi que d'identifier cette localisation au moment de la rechute. Hegde *et al* 2005<sup>97</sup> soulignent la nécessité d'effectuer la recherche de l'atteinte neuro-méningée par un examen cytologique mais également par immuno-phénotypage, pour ne pas passer à côté d'une atteinte neuro-méningée occulte, dont la fréquence peut aller jusqu'à 22% des patients nouvellement diagnostiqués. En effet, la cytologie seule a une faible sensibilité et conduit à des taux de faux négatifs allant de 20 à 60%.

L'incidence de la récurrence au niveau du système nerveux central (SNC) chez les patients avec lymphome non hodgkinien agressif qui n'ont pas reçu de prophylaxie méningée est d'environ 5%. Les facteurs de risques associés à un tel événement restent controversés néanmoins, un taux de LDH augmenté et la présence de plus d'une localisation extra-ganglionnaire ont été identifiés comme des facteurs de risque indépendants pour la rechute isolée au niveau du SNC<sup>29,87</sup>.

Pour Schmitz *et al* 2012<sup>98</sup>, le score CNS-IPI, qui reprend les 5 facteurs du score IPI combinés avec une atteinte rénale ou surrénalienne, est un outil robuste et reproductible pour estimer le

risque de rechute au niveau du SNC chez les patients LBDGC traités avec la chimiothérapie R-CHOP. Environ 10% de la population ayant un score CNS-IPI élevé présente un risque accru (>10%) de rechute au niveau du SNC.

Dans notre population, l'atteinte neuro-méningée a été explorée chez 7 des 9 patients avec lymphome double-hit, chez 1 des 4 patients avec lymphome double-expresser et chez 10 des 29 patients avec LBDGC, NOS. Aucune atteinte neuro-méningée n'a été retrouvée lors du diagnostic. Un patient a rechuté avec une atteinte neuro-méningée isolée dans le groupe de patients LBDGC, NOS.

Les patients avec lymphome double-hit sont plus exposés à une atteinte neuro-méningée au diagnostic<sup>46</sup>. Le risque (estimé entre 21% et 44%) a été probablement surévalué dans les premières études à effectif réduit de patients (inclusion de 16 à 20 patients)<sup>51-53</sup>. Dans les séries rétrospectives plus récentes, l'atteinte du SNC des patients avec lymphome double-hit au moment du diagnostic est respectivement évaluée à 4%<sup>56</sup>, 7%<sup>57</sup>, et 18%<sup>94</sup>. Pour Oki *et al*, 2014, le taux d'atteinte du système nerveux central est de 4% au moment du diagnostic sachant que 10% de la population a été explorée. En analyse multi variée, il a identifié le *performans status*  $\geq 2$  et l'atteinte osseuse comme facteurs pronostiques indépendants de la SG et de la SSP, et a créé un score, le DHIPI. Ce score DHIPI a été identifié comme le seul facteur indépendant prédictif de l'atteinte du SNC : HR 2,14 (IC95% 1,08-4,22), p=0,029<sup>56</sup>.

De même, les lymphomes double-expresser ont un risque significativement plus élevé de rechute au niveau du SNC : Savage *et al* 2016 ont étudié 447 patients LBDGC dont 131 (29%) étaient double-expresser MYC/BCL2. Ce risque à 2 ans est estimé à 9,7% contre 2,2% chez les patients non-double-expresser. (HR 3,76, p= 0,007). Dans l'analyse multivariée, le statut lymphome double-expresser est associé à un risque accru de rechute au niveau du SNC (HR 3.68; IC95% 1.27-10.64, p=0,016) ainsi que le score SNC-IPI indépendamment du statut GC<sup>99</sup>. Il s'agit à notre connaissance de la plus vaste étude explorant le risque de rechute au niveau du SNC chez des patients avec lymphome double-expresser.

Donc, les patients avec lymphome double-hit et lymphome double-expresser représentent une population à risque de rechute neuro-méningée, notamment les patients ayant une atteinte osseuse et un *performans status* >1.

L'absence d'atteinte neuro-méningée chez nos patients peut être expliquée par le faible nombre de patients double hit ainsi que par la courte durée de suivi.

## Caractéristiques biologiques

Dans notre étude, le taux de LDH était supérieur à la normale pour 100% des patients avec lymphome double-hit, 50% des patients avec lymphome double-expresser et 83% des patients LBDGC, NOS.

Dans les études récentes, la proportion de patients avec un taux de LDH élevé est de 69% dans l'étude d'Oki *et al* 2014 (n=129), de 76% dans l'étude de Petrich *et al* 2014 (n=311) et de 84% dans l'étude de Li *et al* 2016 (n=157)<sup>56,57,94</sup>.

Pedersen *et al*, 2012 ont inclus de manière prospective 157 patients de LBDGC *de novo* ou transformés afin de s'affranchir du biais de recherche DHT selon le tableau clinique. Ils ont identifié 17 patients avec lymphome double-hit et ne retrouvent pas de différence de présentation clinique significative entre les patients avec lymphome double-hit et les patients LBDGC, en dehors d'une tendance sur le taux de LDH (82% vs 60%, p=0,07)<sup>55</sup>.

L'étude de Green *et al* 2012 ne montre pas de différence significative du taux de LDH entre les patients avec lymphome double-hit et les patients avec lymphome non double-hit (73% vs 46% p=0,121)<sup>91</sup>. Cette différence ne se retrouve pas non plus entre les patients avec lymphome double-expresser et lymphome non double-expresser (56% vs 44% p=0,148)<sup>91</sup>, ce qui est confirmé par Hu *et al*, 2013 (64% vs 58%, p=0,29)<sup>93</sup>.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence que les lymphomes double-hit ont une présentation plus agressive au diagnostic, d'une part à cause des faibles effectifs, d'autre part car nous avons sélectionné des patients avec des LBDGC, NOS plus agressifs comme groupe comparateur. La littérature ne montre pas les lymphomes double-hit comme ayant une présentation clinique plus agressive que les autres LBDGC, NOS au moment du diagnostic. Le faible effectif des lymphomes double-hit dans les études comparatives (n= 19 à 45 patients) peut expliquer la difficulté à mettre en évidence de façon significative leur plus grande agressivité, contrairement au LBDGC lymphome double-expresser dont la fréquence supérieure permet d'avoir des effectifs plus importants (n=150) et donc de permettre d'atteindre plus facilement le seuil de significativité.

### 4.1.2 Caractéristiques histologiques

#### Statut GC

Dans notre cohorte, 36 patients (86%) ont pu être évalués sur le statut GC selon l'algorithme de Hans<sup>18</sup>. Au total, 21 patients (58%) sont de type GC, parmi eux : 8 patients sont dans le

groupe double-hit (soit 89% de ce groupe), 3 patients sont dans le groupe double-expresser (soit 75% de ce groupe) et 10 patients sont dans le groupe LBDGC, NOS *de novo* (soit 44% de ce groupe).

Nos résultats sont en accord avec plusieurs études qui confirment un taux élevé de statut GC dans la population des patients avec lymphome double-hit, allant de 64% à 99%<sup>52,56,57,69,94,100-102</sup>.

Dans l'étude rétrospective de 157 patients avec lymphome B agressif, de Pedersen *et al*, 2012, le statut GC est observé chez tous les patients avec lymphome double-hit (100%) et 44% des patients avec lymphome non double-hit (44%)  $p < 0,0001$ <sup>55</sup>.

Selon l'étude rétrospective de Green, *et al*, 2012 portant sur 193 patients, 56% des patients ont un statut GC. Le statut GC est significativement plus fréquent dans le groupe de patients avec lymphome double-hit (n=11, soit 91%) que dans le groupe de patients avec lymphome non double-hit (54%,  $p=0,025$ ), d'autre part le statut GC est significativement moins fréquent dans le groupe de patients double-expresser (n=54, soit 37%) que dans le groupe de patients LBDGC non double-expresser (65%,  $p=0,001$ )<sup>91</sup>.

Dans une population de LBDGC *de novo*, après identification du statut GC selon l'algorithme de Choi<sup>19</sup>, celui de Visco<sup>103</sup> et par GEP, Hu *et al*, 2013 observent également une fréquence de statut GC plus élevée parmi les patients avec lymphome double-hit (n=10, soit 90%), tandis que cette fréquence est de 34% chez les patients double-expresser (n=157) et de 61% chez les patients LBDGC non double-expresser (n= 309,  $p < 0,0001$ )<sup>93</sup>.

Une grande partie des études concernant les lymphomes double-expresser confirme que ces lymphomes présentent, contrairement aux lymphomes double-hit, le statut GC de manière minoritaire (entre 24% et 42% des patients)<sup>100,104</sup>. Dans une cohorte rétrospective de 428 patients, Savage *et al*, 2016 ont évalué le statut GC selon l'algorithme de Hans et GEP. Le statut GC est significativement moins fréquent dans le groupe de patients double-expresser par rapport aux patients LBDGC non double-expresser que ce soit par l'algorithme de Hans (41% vs 63%  $p < 0,0001$ ) ou par GEP (33% vs 65%  $p < 0,0001$ )<sup>99</sup>.

Dans notre population, la proportion de statut GC *versus* non-GC différait selon les groupes, mais au vu du faible nombre de patients, nous n'avons pas réalisé de tests statistiques. Néanmoins, en accord avec la littérature que nous venons de citer ci-dessus, les lymphomes double-hit sont plus fréquemment de type GC.

## Ki67

L'index de prolifération par KI67 ou MIB-1 était disponible pour 30 patients dans notre étude. La médiane du taux d'expression de cet indice de prolifération est respectivement de 80%, 83% et 73% pour les patients double-hit, double-expresser et LBDGC, NOS *de novo*. 22% des double-hit, 25% des double-expresser et 7% des LBDGC, NOS avaient un taux élevé de prolifération défini comme supérieur ou égal à 95%.

La comparaison avec les études de la littérature est difficile car le seuil définissant un taux élevé de prolifération n'est pas le même dans toutes les études, il varie de >70% à >90% selon les études. La proportion de patients DHL ayant un taux de prolifération  $\geq 70\%$  est de 84%<sup>94</sup>, la proportion de patients DHL ayant un taux de prolifération  $\geq 85\%$  est de 55%<sup>56</sup>.

Dans l'étude rétrospective de Copie-Bergman *et al*, 2015 le taux de Ki67 défini comme  $\geq 80\%$  est, de façon surprenante, significativement moins fréquent dans les lymphomes double-hit (50%) que dans les lymphomes avec réarrangement *MYC* seul (simple hit SHL) (79%) ( $p=0.043$ )<sup>105</sup>.

Lorsque le seuil d'expression de KI67 est  $\geq 90\%$ , Landsburg *et al*, 2016 observent un taux d'expression similaire entre les lymphomes double-hit 22% ( $n=10/45$ ), et les LBDGC *MYC*-normal ( $n=36/127$ ) 28%, et un taux d'expression plus élevé dans les lymphomes simple hit *MYC* ( $n=56/87$ ) 64%<sup>106</sup>.

Pour Pedersen *et al*, 2012, le taux de prolifération défini comme >90% ne diffère pas non plus entre les lymphomes double-hit 24% et les lymphomes non double-hit 14% ( $p=0,30$ ).<sup>55</sup>

Hu *et al*, 2013 retrouvent un taux de prolifération  $\geq 70\%$  supérieur pour les patients double-expresser (74%) et LBDGC non double-expresser (62%), différence qui est significative ( $p=0,0082$ ) bien que le taux des LBDGC non double-expresser soit inférieur à ceux retrouvés pour les lymphomes double-hit<sup>93</sup>.

L'étude rétrospective de 492 cas de lymphomes B agressifs en histologie (BCLU, BL, LBDGC) par immuno-histochimie et FISH retrouve 28 cas de lymphomes double ou triple-hit<sup>107</sup>. Lorsque le seuil d'expression de KI67 est  $\geq 75\%$ , 77% des patients étaient positifs et lorsque le seuil est  $\geq 95\%$  uniquement 54% des patients sont considérés positifs. Dans cette étude, pour un seuil d'expression de KI67  $\geq 75\%$ , la sensibilité et la spécificité de détection des lymphomes double/triple-hit sont respectivement de 0,77 et 0,36 tandis que pour un seuil d'expression de KI67 >90%, la spécificité est de 0,62 et la sensibilité de 0,54. L'augmentation du seuil d'expression de KI67 ne contribue pas à l'identification des lymphomes B de haut grade double- et triple-hit.

Dans notre étude le taux médian d'expression de KI67 reste élevé même pour le groupe LBDGC, NOS. Ce résultat, n'est pas surprenant puisque ce groupe comparateur est composé de patients ayant un LBDGC *de novo* plus agressif (stade II à IV et âge < 70ans). En ce qui concerne les double-hit et double-expresser, notre étude reste comparable avec la littérature. Même si nous n'avons pas réalisé d'étude statistique, néanmoins au vu de la littérature, il apparaît clairement que le marquage par KI67 ne permet pas d'identifier les patients avec lymphome double-hit ou double-expresser.

#### 4.1.3 Caractéristiques immuno-histochimiques

##### Expression de la protéine MYC

L'immuno-marquage de la protéine MYC a été réalisé pour 23 patients de notre cohorte. L'expression de la protéine MYC (seuil  $\geq 40\%$ ) a été retrouvée pour 89% des patients avec lymphome double-hit, 100% des patients avec lymphome double-expresser et aucun patient LBDGC, NOS *de novo*.

Le seuil du taux d'expression de la protéine MYC est variable selon les études, variant de 30 à 90% ; toutefois un cut-off de 40% pour l'expression de la protéine MYC est retenu<sup>47,100,108</sup>.

Le taux d'expression de protéine MYC est retrouvé  $>90\%$  pour 12 patients (39%) double-hit et 11 patients (58%) simple-hit dans l'étude Copie-Bergman et al (n=574)<sup>105</sup>. Lorsque le cut-off est de 50%, tous les patients double-hit (n=5) sont considérés positifs dans l'étude de Kluk et al 2012<sup>41</sup>, (n=77) et lorsque le cut-off est de 40%, parmi les 7 patients de double-hit, 86% surexpriment la protéine MYC (n =6)<sup>69</sup>.

L'existence de la surexpression de la protéine MYC chez des patients avec LBDGC *de novo* mais sans réarrangement du gène *MYC*<sup>100</sup>, ainsi que l'absence de surexpression de la protéine MYC dans des lymphomes authentifiés double ou triple-hit<sup>109</sup> suggèrent que la protéine MYC pourrait être induite par d'autres mécanismes, comme l'activation des voies de signalisation ou des facteurs de croissance qui régulent l'expression de MYC. Le taux d'expression de la protéine MYC recherchée par les études immunohistochimiques est variable et indirectement corrélée au réarrangement du gène *MYC*. De plus, ce marquage peut être entravé par les difficultés techniques liées aux méthodes de fixation, aux choix d'anticorps et par la qualité du prélèvement.

Ainsi la variabilité entre l'expression de la protéine et les altérations des gènes ne permet pas de recommander l'immuno-marquage de la protéine MYC comme unique méthode de dépistage de la translocation du gène et donc comme méthode d'identification des lymphomes double-hit.



### **Expression de la protéine BCL2**

L'expression de la protéine BCL2 a été évaluée chez 86% des patients de notre cohorte avec un seuil de positivité retenu supérieur ou égal à 40%. L'expression de cette protéine BCL2 est positive chez 89% (8/9) des patients avec lymphome double-hit, chez tous les patients (4/4) du groupe double-expresser et chez 57% (13/23) des patients du groupe LBDGC, NOS.

Dans les différentes études, le seuil de positivité retenu varie de 50 à 70% selon les études, rendant difficile leur comparaison<sup>2,110,111</sup>. La proportion de patients exprimant la protéine BCL2 varie de 50 à 70% dans des cohortes de double-hit et de LBDGC, NOS<sup>69,91,93</sup>.

Dans l'étude de Copie-Bergman *et al*, 2013, la proportion de patients exprimant la protéine BCL2 est de 83% dans la population de patients avec lymphome double-hit et de 58% dans la population de patients avec lymphome simple-hit (p=0,042). Il est à noter que dans cette étude, que deux seuils de positivité de la protéine BCL2 ont été retenus (50% et 70%), mais aucune distinction n'est faite entre ces 2 seuils dans la présentation des résultats<sup>105</sup>.

Chez les patients avec lymphome double-hit, la proportion de patients exprimant la protéine BCL2 est voisine de 90% (avec un seuil de positivité retenu de 50%)<sup>56,94</sup>, et ne diffère pas de la proportion de patients exprimant la protéine BCL2 chez les patients avec LBDGC non double-hit (82% vs 87% p=0,52) selon Pedersen *et al* 2012<sup>55</sup>.

Dans la nouvelle classification de l'OMS de 2016, le seuil de positivité de l'expression de la protéine BCL2 est de 50%<sup>47</sup>.

### **Expression de la protéine BCL6**

L'expression de la protéine BCL6 a été recherchée pour 74% des patients dans notre étude. Cette expression est positive chez 78 % (7/9) des patients avec lymphome double-hit, chez 75% (3/4) des patients double-expresser et 72% (13/18) des patients du groupe LBDGC, NOS *de novo*. Dans la littérature, l'expression de la protéine BCL6 est recherchée car elle permet de définir le statut GC/non GC en utilisant l'algorithme de Hans. L'expression de la protéine BCL6 se retrouve dans environ 92% des patients avec lymphome double-hit<sup>94</sup>, son expression ne diffère pas entre les patients avec lymphome double-hit (82%) et les patients avec LBDGC non double-hit (86%)<sup>55</sup>. Néanmoins, si le terme de double-hit couvre le réarrangement de *MYC* avec *BCL2* et/ou *BCL6*, les lymphomes double-hit *MYC/BCL6* sont plus rares que les lymphomes double-hit *MYC/BCL2*<sup>69,105</sup>, et les lymphomes double-hit *MYC/BCL6* sont souvent exclus des études du fait de leur faible fréquence et du fait que leur pronostic est très controversé<sup>52,54,69,91,93,100,112</sup>. Pour la quasi-totalité des études, le terme de

double-expresser décrit exclusivement l'expression concomitante des protéines MYC et BCL2<sup>91,93,100</sup>. De même, dans la nouvelle classification de l'OMS de 2016, la recherche de la protéine BCL6 n'est pas considérée pour l'identification des lymphomes double-expresser<sup>47</sup>. Seul Friedberg *et al* 2017 retient la co-expression de MYC/BCL6 comme faisant partie des double-expresser<sup>48</sup>.

## **4.2 Choix du dépistage des lymphomes double-hit en partant des double-expresser**

Parmi les 167 patients diagnostiqués de LBDGC dans notre service, 7% (n=12) présentent une double expression *MYC/BCL2*. Au sein de la population de moins de 70 ans ayant un LBDGC *de novo*, de stade II –IV (n=33), cette proportion de patients double-expresser est de 12% (n=4).

Dans la littérature, la fréquence de patients double-expresser est de 19 à 34%<sup>91,93,100,104,113</sup>. Dans notre série la fréquence de double expression de MYC et BCL2 est moins importante que celle rapportée dans la littérature. Cette différence peut s'expliquer par le fait que nous avons restreint notre étude aux patients âgés de 18 à 70 ans et que nous avons exclu les patients de stade I d'Ann Arbor ainsi que les transformations de bas grade du lymphome. Nous n'avons pas réalisé de comparaisons statistiques de nos 3 groupes en raison du faible effectif de chacun.

Comme détaillé précédemment, les patients double-expresser présentent plusieurs facteurs pronostiques défavorables mais qui sont controversés. Il est établi que ces patients double-expresser se distinguent des autres patients par un âge plus avancé<sup>93,99</sup>, par un stade de la maladie plus élevé<sup>93</sup> et de manière certaine par une expression plus fréquente du statut non-GC<sup>41,69,91,93,100,113</sup>. Il n'y avait pas de différence significative entre le sexe, le taux sérique de lactate déshydrogénase, la taille de la tumeur ou la fréquence des mutations TP53<sup>46,93</sup>.

Les patients avec lymphome double-hit et les patients double expresser ne concordent pas ; les patients avec lymphome double-hit ne sont pas tous double expresser : environ 80% des patients avec lymphome double/triple-hit sont également double expresser. Seulement moins de 20% de patients double-expresser sont des patients avec lymphome double-hit<sup>91</sup>. Ces

chiffres suggèrent que d'autres mécanismes que la translocation sont à l'origine de la surexpression de ces protéines.

La proportion de patients double-expresser au sein des patients avec lymphome double-hit était de 89% (8/9) dans notre cohorte. Le seul patient dans notre cohorte de double-hit qui n'était pas double-expresser présentait un taux d'expression de MYC de 20%.

La classification de l'OMS de 2016 n'émet pas de recommandation consensuelle pour savoir si tous les LBDGC ou bien seulement certains doivent faire l'objet de recherche de réarrangements géniques.

Dans notre centre hospitalier, la recherche de réarrangement du gène *MYC* est réalisée par la technique de FISH dans les cas où le taux d'expression de la protéine MYC est supérieur à 40% et celui de la protéine BCL2 supérieur à 40%.

Friedberg *et al* 2017 réalisent une recherche par la technique de FISH en utilisant une sonde break apart pour *MYC* ainsi qu'une recherche de translocation t(14;18) pour tout nouveau LBDGC diagnostiqué dans leur institution<sup>48</sup> mais, la recherche systématique de réarrangements géniques dans tous les cas de LBDGC aboutirait à une augmentation des coûts de diagnostic et nécessiterait de développer les moyens de diagnostic actuels.

D'autres possibilités de stratifier la détection sur l'index de prolifération (KI67), sur le statut GC/non-GC ou encore le taux d'expression de la protéine MYC<sup>114</sup> s'appuient sur des études rétrospectives majoritairement non validées. Cependant, restreindre la recherche de lymphomes double-hit à certains patients seulement, expose à un risque de sous diagnostic. Or ces patients double-hit, ayant un mauvais pronostic, nécessitent d'emblée une prise en charge thérapeutique plus agressive.

La recherche de translocation par la technique de FISH pourrait se limiter aux patients de groupe-GC avec surexpression de *MYC-BCL2* et pourrait être réalisée de manière systématique pour les transformations de lymphomes folliculaires. De fait, les lymphomes folliculaires présentent la translocation de *BCL2* : t(14;18). Il semble important de rechercher la survenue d'une altération du gène *MYC* parmi les évènements clonaux apparaissant au cours de l'évolution de ces lymphomes et de leur transformation en lymphome agressif.

La recherche de réarrangement génique au diagnostic chez tout patient jeune (éligible à un traitement intensif) avec un nouveau diagnostic LBDGC est une option qui pourrait s'envisager. L'accès au diagnostic de réarrangement serait facilité par le développement de la technique de FISH sur matériel fixé en paraffine.

### 4.3 Double hit : partenaire

#### Double-hit

Dans notre population, 9 patients présentent un double ou triple réarrangement des gènes *MYC*, *BCL2* et/ou *BCL6* : 7 patients (78%) présentent un réarrangement *MYC/BCL2*, un patient présente un réarrangement *MYC/BCL6* et un patient présente un triple réarrangement *MYC/BCL2/BCL6*.

Dans la littérature, le réarrangement *BCL2* est présent dans environ 60 à 90% des cas de double-hit/triple-hit, le réarrangement *BCL6* dans environ 5 à 20% des cas, et le triple réarrangement *MYC/BCL2/BCL6* dans environ 8%<sup>56-58,105</sup>. L'incidence de double-hit est d'environ 10% dans LBDGC *de novo* et environ 20% dans le lymphome de haut grade transformé à partir d'un lymphome B de bas grade, en particulier le lymphome folliculaire (FL)<sup>55-58,101</sup>. De nombreuses études n'intégraient pas l'entité de double-hit *MYC/BCL6* au sein des lymphomes double-hit en raison de leur plus rare fréquence et de leur pronostic différent<sup>100,112,115</sup>. Néanmoins la classification de l'OMS de 2016 inclut les lymphomes double-hit *MYC-BCL6* au sein des lymphomes B de haut grade (HGBL) avec réarrangement *MYC*, *BCL2* et/ou *BCL6*.

L'absence de patients avec simple réarrangement *MYC* peut s'expliquer par la petite taille de la cohorte, le caractère rétrospectif de l'étude, le faible taux de recherche en cytogénétique, les limites techniques (matériel épuisé, absence de congélation possible, ...). En effet, dans notre centre hospitalier, la technique de FISH pour la recherche de réarrangement *MYC*, *BCL2* et *BCL6* s'effectue sur matériel frais en cytogénétique. Cela nécessite d'avoir du matériel frais, congelé ou bien de pouvoir réaliser la technique d'apposition sur lame au moment du diagnostic, ce qui peut être difficilement réalisable en cas de faible quantité ou en cas de qualité moyenne (nécrose, prélèvement de petite taille ou non informatif...) du prélèvement. De plus les indications de recherche de réarrangement génétique *MYC* n'étaient pas définies de la même manière sur la période de 2012 à 2015. Cette période correspond à la mise en place, au laboratoire d'anatomopathologie, du marquage de la protéine *MYC* par immunohistochimie.

Néanmoins les résultats que nous avons restent intéressants et pertinents car ils donnent une image de la pratique dans notre centre sur cette période.

## Partenaire de MYC

Dans les lymphomes de Burkitt, le gène *MYC* est réarrangé classiquement dans les loci de l'immunoglobuline (IG), soit au niveau du gène de la chaîne lourde IG (IGH), soit plus rarement au niveau des gènes de la chaîne légère kappa (IGK) ou lambda (IGL). Au contraire, dans les LBDGC, les réarrangements de *MYC* impliquent des gènes partenaires de translocation non IG jusqu'à la moitié des réarrangements, dont *BCL6*, *PAX5*, *BCL11A*, ou *IKAROS*<sup>43,55,59,112</sup>. Des études ont suggéré un impact pronostique possible du gène partenaire IG, bien que correspondant à un groupe hétérogène en termes d'histologie et de thérapeutique reçue<sup>43,55,112</sup>. En reprenant 574 patients avec LBDGC traités par immuno-chimiothérapie, Copie-Bergman *et al* 2015 se sont intéressés à la significativité du partenaire de réarrangement du gène *MYC*. Cette étude a identifié 32 patients (5,6%) avec réarrangement double/triple-hit et 19 patients (3,3%) simple hit<sup>105</sup>. Le gène partenaire du réarrangement *MYC* était un gène IG pour 47% des patients (n=24) et un gène non-IG pour 53% des patients. Dans le groupe double/triple-hit, le réarrangement avec un partenaire IG était moins fréquent dans le groupe lymphome double-hit (39%) que dans le groupe des lymphomes simple hit (63,2%) (p=0.038). Le réarrangement du gène *MYC* avec un gène IG conférait un pronostic défavorable qui se retrouvait dans les groupes simple-hit et double-hit. Le réarrangement du gène *MYC* avec un gène non-IG conférait un pronostic favorable aux patients simple-hit et double-hit, avec une survie comparable à celle des patients sans réarrangement *MYC*, suggérant ainsi, que le pronostic défavorable des patients avec lymphome simple- et double-hit serait dû, en fait, à la présence d'un réarrangement *MYC* avec un gène IG.

Au vu de ces données, l'identification du partenaire de réarrangement de *MYC* a été étudiée dans notre population de manière rétrospective. Le gène partenaire de réarrangement du gène *MYC* a été recherché par utilisation de sonde double-fusion *MYC-IG* pour 7 patients. Par cette technique, on a pu affirmer que le gène partenaire du réarrangement était IGH pour 4 patients, non-IG pour 2 patients et douteux pour un patient ; il n'a pas été recherché pour les 3 patients restants. Au vu des faibles effectifs, nous n'avons pas pu réaliser de tests statistiques. Néanmoins, il paraît important pour les futures études prospectives que soit identifié le gène cible réarrangé avec le gène *MYC* pour les lymphomes simple ou double-hit, afin de pouvoir confirmer leur pronostic et de mieux comparer l'impact des thérapeutiques évaluées.

## Caryotype

Seulement deux patients ont eu un caryotype réalisé dans le groupe double-hit. Ces deux caryotypes étaient complexes. Dans la littérature, on note que le réarrangement de LBDGC est

plus souvent présent dans le cas de caryotypes complexes<sup>116,117</sup>, ce qui les différencie des lymphomes de Burkitt.

## 4.4 Survie et facteurs pronostiques

### 4.4.1 Survie selon les caractéristiques cliniques

Dans notre étude 56% des patients avec lymphome double-hit sont âgés de plus de 60 ans. Dans leur étude, Oki *et al* 2014 ne retrouvent pas l'âge comme étant un facteur de pronostic alors que Petrich *et al* 2014 identifient l'âge  $\geq 60$  ans comme facteur pronostique défavorable (HR 1,62 ; IC95% [1,177-2,234] ;  $p=0,003$ )<sup>56,57</sup>. Dans notre population de patients avec lymphome double-hit nous n'avons pas pu étudier l'influence de l'âge au vu de nos faibles effectifs.

Le *performans status*  $\geq 2$  est un facteur de survie défavorable pour les patients avec lymphome double-hit, à la fois pour la survie globale et pour la survie sans progression dans l'analyse univariée et multivariée<sup>56,57</sup>. Dans notre étude, 22% des patients avec lymphome double-hit avaient un *performans status*  $\geq 2$ , contre 14% dans le groupe LBDGC, NOS *de novo*. La survie globale à 2 ans de ces patients était respectivement de 69% et 75% ( $p=0,85$ ). Les patients avec un *performans status*  $< 2$  ont une survie sans progression qui est 2,4 fois supérieure à celle des patients ayant un *performans status*  $\geq 2$  ( $p=0,012$ ). L'absence de différence en survie globale dans notre étude peut être liée à notre faible effectif.

L'impact du stade du lymphome double-hit au diagnostic sur la survie est encore à l'heure actuelle débattu. En effet, selon Oki *et al* 2014, les stades III et IV, pris dans leur ensemble, n'ont pas d'impact sur la survie, le stade IV seul est de pronostic défavorable, tandis que selon Petrich *et al* 2014, les patients ayant un stade  $\geq III$  ont une survie globale significativement plus courte (HR 2.607 ; IC95%(1.373, 3.138)  $p=0,001$ )<sup>56,57</sup>.

On ne met pas en évidence d'impact pronostique du stade Ann Arbor ( $< III$  versus  $\geq III$ ) sur notre groupe total de patients (survie globale  $p=0,66$  et survie sans progression  $p=0,76$ ). Ce résultat est nuancé par le fait que notre groupe de patients contrôle correspond à des patients avec un stade  $\geq II$ . La survie globale de nos patients double-hit avec un stade étendu à 2 ans ( $n=8$ ) est de 50% contre 100% ( $p=0,510$ ) pour les stades non étendus ( $n=1$ ) ce qui est difficile à interpréter puisque le seul patient ayant un stade I était vivant.

Au sein des lymphomes double-hit, l'existence de plus d'une localisation extra-nodale est observée comme facteur défavorable de survie globale dans l'étude de Li *et al* 2016 (HR=2.10 IC95% (1.31–3.28) p=0.002) et Petrich *et al* 2014 (HR 1.518 IC95% (1.099, 2.294) p=0.014)<sup>57,94</sup>. Pour Oki *et al* 2014, cette localisation n'influence pas significativement la survie (p=0.066)<sup>56</sup>. La survie globale à 2 ans de nos 5 patients avec plus d'une localisation extra-ganglionnaire est de 70%, elle est identique à celle des patients sans localisation extra-nodales (p= 0,76), la survie sans progression à 2 ans est de 51% contre 80% (p=0,08).

Dans notre étude, l'atteinte médullaire a été trouvée pour 4 patients, dont 3 appartiennent au groupe double-hit ; nous ne pouvons pas faire d'analyse de survie à cause des faibles effectifs, ce qui serait intéressant car l'atteinte médullaire est notée comme un facteur défavorable<sup>57,94</sup> en survie globale (HR 1.91, IC95% [1.19-3.06] p=0,008)<sup>56</sup>. Oki *et al* ont montré que les patients présentant à la fois un mauvais statut de performance et une atteinte médullaire constituaient le groupe de patients ayant les survies les plus courtes (survie globale 2ans 17% et survie sans progression 0%) et présentaient un plus grand risque d'atteinte méningée. Dans notre étude, la survie globale du patient ayant un lymphome double-hit et présentant un *performans status*  $\geq 2$  combiné à une atteinte médullaire est de 35 mois<sup>56</sup>.

Nous ne retrouvons aucune atteinte méningée lors du diagnostic, ni à la rechute pour nos patients avec un lymphome double-hit.

Dans notre étude, le taux de LDH est supérieur à la normale pour tous les patients avec un lymphome double-hit. Le taux de LDH élevé est un facteur pronostique de survie globale pour Oki *et al* (HR 2,21 IC95% [1,10-4,45] p=0,027) qui définissent un seuil supérieur à 3 fois la normale<sup>56</sup>. Petrich *et al* retrouvent un impact pronostique en survie globale en analyse univariée et multivariée (HR 1,73 IC95% [1-3,02] p=0,05)<sup>57</sup>. En revanche, pour Li *et al* 2016, le taux de LDH n'est pas un facteur pronostique de survie en analyse univariée (p=0,160)<sup>94</sup>.

#### **4.4.2 Survie selon les caractéristiques histologique et immunohistochimique**

##### **Histologie**

Petrich *et al* 2014 n'ont pas trouvé un impact défavorable sur la survie selon le type histologique entre LBDGC et un lymphome de type intermédiaire entre le LBDGC et le lymphome de Burkitt (p=0.33) de même que Oki *et al* (p=0,601) et Li *et al* (p=0,728)<sup>56,57,94</sup>. Pour Petrich *et al* 2014, l'antécédent de LNH de bas grade, notamment le lymphome folliculaire, n'a pas d'impact sur la survie globale (p=0.842) ainsi que pour Oki *et al* (p=0.440) et pour Li *et al* (p=0,285)<sup>56,57,94</sup>. Dans notre groupe nous avons exclu les patients

avec le diagnostic histologique de type lymphome intermédiaire (BCLU), 2 patients avaient un lymphome de bas grade avant la transformation en LBDGC double-hit. Nous n'avons pas pu déterminer l'influence de la transformation sur la survie globale.

Au regard de ces données, il apparaît nécessaire d'inclure toutes les histologies dans le groupe des lymphomes B avec réarrangement double et triple-hit dans une future étude.

Huit patients avec lymphome double-hit étaient de type GC et un patient de type non-GC. Au sein des patients avec lymphome double-hit, le statut GC ne paraît pas être un facteur pronostique<sup>56,57</sup> contrairement à ce qui a été décrit pour les LBDGC, NOS<sup>91,105</sup>.

Dans notre cohorte, le taux médian de prolifération était proche entre les 3 groupes. En considérant un seuil >90%, le taux de prolifération n'influence pas significativement la survie ( $p=0,13$ ) pour notre population de LBDGC tout confondu. Dans l'étude de Oki *et al* 2014, le taux d'expression de Ki67 n'impacte pas non plus la survie des patients avec un lymphome double-hit<sup>56</sup>.

### **Immunohistochimie**

Les patients LBDGC double-expresser ont une survie plus courte que les patients LBDGC sans double expression, (la survie globale à 5 ans est de 30% à 52% vs 75% ( $p\approx 0,0001$ ); la survie sans progression à 5 ans est de 27% à 46% vs 73% ( $p=0,0001$ )<sup>91,93,99</sup>. Néanmoins leur survie est meilleure que celle des LBDGC double-hit : la survie globale à 5 ans est de 36% vs 27%, et la survie sans progression à 5 ans est de 32% contre 17% pour patients avec lymphome double-hit<sup>100,113</sup>.

Dans l'étude de Hu *et al* 2013, l'expression de la protéine MYC seule (*versus* MYC négatif) et de la protéine BCL2 (*versus* BCL2 négatif) a isolément un impact sur la survie globale et sur la survie sans progression. D'après les auteurs, cette valeur pronostique semble être plutôt liée à la présence de patients double-expresser au sein de ces groupes de patients. De fait, après avoir exclu les patients double-expresser, aucune de ces deux protéines ne gardait d'impact sur le pronostic de survie<sup>93</sup>.

#### **4.4.3 Survie selon les caractéristiques cytogénétiques**

##### ***Gène MYC***

Le réarrangement isolé du gène *MYC* dans les LBDGC simple-hit est un facteur dont le rôle pronostique est assez controversé, la plupart des études ont montré une valeur pronostique



défavorable de ce facteur<sup>11,43,44,50,69,118,119</sup>, alors que d'autres études n'ont pas observé d'impact du réarrangement isolé du gène *MYC* sur la survie<sup>55,100,112,115</sup>.

Dans l'étude de Valera *et al* 2013, l'amplification du gène *MYC*, et non le gain de *MYC* est associée à un pronostic défavorable ce qui n'est pas confirmé dans l'étude de Landsburg *et al* 2016. L'effet pronostique défavorable sur la survie de SHL quel que soit le gène partenaire est comparable à celui de DHT chez des patients traités par R-CHOP (survie globale à 2 ans  $p=0,13$ , survie sans progression à 2 ans  $p=0,12$ )<sup>69,106</sup>.

D'autres études ont montré que le pronostic défavorable associé au réarrangement du gène *MYC* est associé à la présence concomitante d'un réarrangement des gènes *BCL2* et *BCL6*<sup>43,55,101</sup>.

Copie-Bergman *et al* ont souligné l'importance de la nature du partenaire de translocation du gène *MYC* sur la survie. Lorsque ce partenaire est le gène des immunoglobulines (*IG*), la survie des patients est diminuée<sup>120</sup>. Dans une étude récente publiée en 2015, Copie-Bergman *et al* confirment que le réarrangement du gène *MYC* avec un partenaire *IG* a un impact défavorable sur la survie globale<sup>105</sup>.

Parmi les 50 cas évalués dans cette étude, le gène partenaire de la translocation *MYC* était un gène *IG* dans 24 cas et un gène non-*IG* dans 26 cas. Les patients *MYC-IG* avaient une survie globale plus courte que les patients *MYC-nonIG* ( $p=0,0002$ ), alors qu'il n'y avait pas de différence de survie globale entre les patients *MYC-nonIG* et les patients *MYC-normal*.

L'impact du réarrangement du gène *MYC-IG* sur la survie sans progression est indépendant du score IPI et du statut GC/non-GC en analyse multivariée. Cette étude confirme aussi que le réarrangement du gène *MYC-IG* dans un contexte de double-hit (réarrangement *BCL2* ou *BCL6*) reste un facteur pronostic défavorable sur la survie. Cette étude montre également que la survie globale ne diffère pas entre les patients simple-hit avec partenaire *IG* ( $p=0,0175$ ) et les patients double-hit avec partenaire *IG* ( $p=0,0023$ ).

### **Lymphomes double-hit**

Notre population de patients avec lymphome double-hit comprenait 7 patients double-hit *MYC/BCL2*, 1 patient triple-hit et 1 patient double-hit *MYC/BCL6*. Dans ce contexte, il ne nous était pas possible de mettre en évidence une différence de survie ou de non infériorité entre les différents groupes de réarrangement du gène *MYC*.

Dans l'étude de Copie-Bergman *et al* 2015, l'absence de valeur pronostique des double-hit *MYC* en analyse multivariée est inattendue, étant donné que la majorité des études publiées ont décrit les lymphomes double-hit comme étant agressifs, de mauvais pronostic de survie et

résistants à la chimiothérapie conventionnelle<sup>43,53,58,60,105</sup>. Si l'on exclut les patients double-hit *MYC/BCL6* dans l'étude de Copie-Bergman *et al* 2015, on retrouve le statut pronostique défavorable des double-hit et triple-hit *MYC/BCL2* sur la survie globale ( $p=0.0055$ ) et sur la survie sans progression ( $p=0.027$ ) en analyse multivariée<sup>105</sup>.

Pour les lymphomes double-hit, l'impact du second réarrangement associé (*BCL2* ou *BCL6*) sur le pronostic de survie est controversé, certains auteurs retrouvant les réarrangements *MYC/BCL6* associés à un meilleur pronostic de survie<sup>110</sup>, d'autres auteurs retrouvant ces réarrangements associés à de moins bons pronostics de survie<sup>102</sup> et d'autres auteurs encore ne trouvent pas de différence de pronostic de survie avec les réarrangements *MYC/BCL2*<sup>56,57,94</sup>.

L'impact des triple-hit est également controversé, certains auteurs retrouvant les triple-hit associés à un moins bon pronostic de survie<sup>101</sup> alors que d'autres auteurs ne trouvent pas de différence de pronostic de survie entre les triple-hit et les double-hit<sup>56,57,94</sup>.

On retrouve 89% de double-expresser parmi les patients avec lymphome double-hit. Au sein des LBDGC double-hit, Li *et al* ne retrouvent pas d'impact de la protéine MYC sur le pronostic de survie ( $p=0,87$ ), ceci est également vrai pour l'expression de BCL2 ( $p=0,270$ ) et pour la co-expression de MYC-BCL2 ( $p=0,42$ )<sup>94</sup>.

L'entité des LBDGC double-hit semble hétérogène. Cette population ne diffère pas significativement des LBDGC sur le plan clinique ni sur le plan histologique. Leur identification ne peut donc pas se faire sur la base des critères cliniques-biologiques ou histologiques.

Les résultats concernant la recherche d'identification de facteurs pronostiques cités dans les études ci-dessus sont discordants. Seuls le *performans status*, le score IPI élevé et l'atteinte neuro-méningée ont une valeur pronostique sur la survie globale. L'histologie (BCLU vs LBDGC) et le caractère transformé ne sont pas des facteurs pronostics de la survie.

Ces résultats soulignent l'hétérogénéité des lymphomes double-hit au sein de la nouvelle entité décrite par la classification de l'OMS de 2016. Cela est renforcé au vu de la discordance des résultats concernant l'identification de facteurs pronostiques tant sur le plan clinique qu'histologique.

## 4.5 Traitements

Dans le groupe des patients avec lymphome double-hit, un patient a reçu un traitement R-CHOP et les autres ont reçu un traitement par chimiothérapie intensive (R-COPADEM, R-DA-EPOCH ou RCHOP-MTHX). Comme le montrent de nombreuses études, le pronostic

des patients avec lymphome double-hit traités par R-CHOP est mauvais, la survie médiane variant de 4,5 mois à 21 mois selon les études<sup>43,50-52,91,93</sup>. Aucune étude prospective étudiant la comparaison entre le traitement par R-CHOP et d'autres immuno-chimiothérapies intensives n'a été publiée à ce jour. De façon étonnante, l'unique patient de notre cohorte double-hit traité par R-CHOP est le patient présentant une survie globale de 18,8 mois (score IPI 1 au diagnostic, PS <2 au sein du groupe) et une survie globale à 2 ans de 100%.

Parmi les premières études rétrospectives, Le Guill *et al* en 2007 ont étudié 16 patients présentant un double réarrangement *MYC/BCL2*. Parmi eux, 7 ont reçu une chimiothérapie de type COPADEM, 3 patients ont bénéficié d'une intensification thérapeutique avec autogreffe de CSP et 2 patients ont bénéficié d'une allogreffe de moelle osseuse. Malgré ces chimiothérapies intensives, les patients avaient une médiane de survie très faible (inférieure à 1 an) ; les médianes de survie globale et de survie sans progression étaient respectivement de 5 et 4 mois. La médiane de survie globale pour les patients greffés (n=5) était de 7 mois contre 4 mois pour les patients non greffés (n=11)<sup>53</sup>.

L'étude rétrospective de 2003 à 2015 menée par Li *et al* 2016 comprenait 157 patients double-hit dont 49 patients avaient une transformation de LNH folliculaire. La médiane de survie globale des double-hit était de 19 mois. 38% des patients (n=54) ont reçu un traitement standard par R-CHOP et 48% (68 patients) ont eu une chimiothérapie plus intensive qui était soit du R-EPOCH (34 patients) soit du hyper-CVAD (34 patients). Les patients traités par R-EPOCH montraient une meilleure survie globale, mais cette différence de survie avec les patients traités par R-CHOP n'était pas statistiquement significative (HR 1,27, IC 95% 0,61-2,60, p=0,545)<sup>94</sup>.

L'étude rétrospective réalisée entre 2003 et 2013 au centre médical MD Anderson (Houston, US) par Oki *et al* 2014 comporte 129 patients double-hit. Dans cette série, 44 patients ont reçu un traitement standard de type R-CHOP, 28 patients ont reçu un traitement R-EPOCH et 34 patients un traitement R-CVAD/M. Le taux de RC était significativement plus élevé pour les patients traités en première ligne par R-EPOCH (68%) ou R-Hyper-CVAD/M (68%) que pour ceux recevant un traitement par R-CHOP (40%) (p=0.01). Sur l'ensemble de la cohorte, la médiane de survie sans progression et celle de survie globale sont respectivement de 8 et 18 mois. Les patients traités par R-EPOCH présentaient une meilleure survie que ceux traités par R-CHOP comme le montre la survie sans progression à 2 ans qui est respectivement de 67% et 20% (HR 0,35, IC95%= 0,17-0,72, p =0.004) ainsi que la survie globale à 3 ans qui est respectivement de 76% et 35 % (HR 0,43, IC95%= 0,18-1,03, p =0.057). Dans cette étude la définition de double-hit comprenait la translocation de *MYC*,

*BCL2* et/ou *BCL6*, mais aussi la présence de copies supplémentaires de ces mêmes gènes. L'histologie de la population n'était pas homogène ; les patients LBDGC *de novo* représentaient 65% des patients, les autres histologies étant BCLU, transformation folliculaire et lymphome folliculaire grade 3<sup>56</sup>.

Petrich *et al* 2014 ont identifié dans une large étude rétrospective non randomisée 311 patients avec un lymphome double-hit sur 23 centres académiques de 2000 à 2012. La médiane de survie sans progression et celle de survie globale de l'ensemble de la population sont respectivement de 10,9 et 21,9 mois.

En traitement de première ligne, 100 patients (32%) ont eu un traitement standard par R-CHOP et les autres patients ont reçu un traitement intensif soit par R-EPOCH (64 patients ou 21%), soit par R-Hyper-CVAD (65 patients ou 21%), soit par R-CODOX-M (42 patients ou 14%), soit par R-ICE (9 patients ou 3%). La médiane de survie sans progression est meilleure lorsque les patients ont reçu un traitement autre que R-CHOP 21,6 vs 7,8 mois ;  $p=0,001$ , mais les taux de survie globale ne diffèrent pas ( $p = 0,564$ ). La comparaison de chaque autre type de chimiothérapie au traitement R-CHOP montre une survie sans progression significativement supérieure ; RCHOP vs Hyper CVAD ( $p=0,001$ ); vs CODOX-M/IVAC ( $p=0,036$ ); vs R-DAEPOCH ( $p=0,0463$ ). La population n'était pas homogène, les LBDGC constituant 50% des patients. L'impact pronostique d'un traitement initial plus intensif se confirmait en analyse multivariée sur la survie globale (HR= 0.53 ; (IC95% CI 0.29-0.98,  $p=0,042$ ). Malgré l'absence d'impact sur la survie, les traitements intensifs de type R-DAEPOCH et R-Hyper-CVAD permettaient de mettre plus de patients en réponse complète que le traitement par R-CHOP ( $p<0,05$ )<sup>57</sup>.

## 4.6 Autogreffe

Dans notre groupe, 6 patients ont eu une autogreffe : un patient en 1<sup>ère</sup> ligne et 5 au-delà de la 2<sup>ème</sup> ligne. Les médianes de survie globale et de survie sans progression des patients autogreffés sont respectivement non atteinte et 6 mois. Les taux de survie globale et de survie sans progression à 2 ans sont respectivement de 67% et 17%.

Parmi nos patients double-hit, 3 patients ont été greffés. Les taux médians de survie globale et de survie sans progression des patients autogreffés sont respectivement de 19 et 6,1 mois. Les taux de survie globale et de survie sans progression à 2 ans sont tous les deux de 33%.

Dans l'étude de Oki *et al* 2014, 24 des 129 patients (soit 18,6%) ont eu une autogreffe. Le taux de greffe en première ligne était significativement plus élevé dans le bras R-DA-EPOCH (50%) que dans le bras R-CHOP (4%) ( $p<0,001$ ), puisque le taux de réponse complète était

plus important dans le groupe de R- DA-EPOCH. Les auteurs ajoutent, que du fait du caractère rétrospectif de l'étude, les praticiens peuvent avoir été influencés et avoir plus fréquemment proposé une autogreffe aux patients recevant un traitement intensif. L'analyse univariée montre que la SSP est longue lorsque les patients ont reçu du R-DA-EPOCH avant la greffe plutôt que du R-CHOP (HR 0,38,  $p = 0,008$ ). En revanche, la greffe en première ligne ( $n=23$ ) pour les patients en réponse complète ( $n = 71$ ) n'apporte pas de bénéfice de survie (survie globale à 2ans : 70% dans les 2 groupes et survie sans progression à 2 ans : 68% et 53% respectivement ( $p=0,133$ ))<sup>56</sup>.

Cette donnée était retrouvée dans l'étude de Petrich *et al* 2014, ( $n=311$ ), la greffe en première ligne n'apporte pas de bénéfice de survie globale ( $p = 0.14$ ) chez les patients en RC, quel que soit le type de greffe (auto- ou allogreffe,  $p=0,302$ ). On retrouve un taux de greffe de 27%, dont 39 patients (10%) d'autogreffe en 1<sup>ère</sup> rémission complète et 14 patients allogreffés en 1<sup>ère</sup> RC<sup>57</sup>.

Sur les 157 patients double-hit de Li S. *et al* 2016, 39 patients ont été greffés, dont 31 autogreffés (20%) et 8 allogreffés. La greffe de cellules souches (autogreffe  $n=31$ , allogreffe  $n=8$ ) est identifiée comme facteur de bon pronostic de survie globale (HR 0,42, IC95% = 0,29-0,78,  $p=0,0003$ ). Néanmoins, en étudiant la significativité de la greffe sur la survie globale en fonction de la réponse à la première ligne (RC réponse complète, RP réponse partielle et RP réfractaire primaire), seuls les patients RP recevant une greffe amélioraient significativement leur survie globale *versus* l'absence de greffe (SG médiane : non atteinte *versus*  $\approx 10$  mois,  $p= 0,003$ ). Le bénéfice ne se retrouve pas pour les patients en réponse complète ( $p=0,963$ ) mais pour les patients en RP ( $p=0,09$ ) à l'issue de la première ligne<sup>94</sup>.

Ces résultats sont proches de ce que nous avons trouvé dans notre cohorte. La possibilité d'extraire des conclusions à partir de nos résultats est limitée du fait du faible effectif de notre groupe double-hit dans la cohorte, et c'est également pour cela que nous n'avons pas réalisé de tests statistiques. Il est important d'augmenter le nombre de patients de l'échantillon étudié car de plus nombreuses données permettraient d'identifier un sous-groupe de patients avec un mauvais pronostic à autogreffe.

## 5 CONCLUSION

Les lymphomes double-hit sont de mauvais pronostic, leur survie est améliorée par des traitements plus intensifs que le traitement standard par R-CHOP. Il est nécessaire de guider ce choix selon les comorbidités du patient, une étude randomisée R-DA-EPOCH vs R-COPADEM pourrait nous aider dans le choix du traitement de 1<sup>ère</sup> ligne. Le bénéfice de l'autogreffe en première ligne n'est pas certain, mais cette consolidation chez des patients en réponse complète après rattrapage reste toujours bénéfique. Afin de connaître des données statistiquement solides sur l'absence d'intérêt de l'autogreffe en 1<sup>ère</sup> réponse complète, seule une étude prospective randomisée pourrait apporter une réponse. D'après la littérature, l'allogreffe est rarement utilisée ; dans notre cohorte, aucun patient n'en a bénéficié et il est difficile de conclure sur son intérêt potentiel.

Les patients en réponse complète ont une survie longue, d'où l'intérêt d'introduire de nouveaux traitements pour favoriser cette réponse pour ce type de lymphome. A ce titre, les lymphomes double-hit présentent 2 cibles de choix pour l'immunothérapie que sont les protéines MYC et BCL2.

Des inhibiteurs de la protéine BCL2 comme le navitoclax et le venetoclax ont montré une réponse sur quelques patients réfractaires. En ce qui concerne la surexpression de la protéine MYC, l'inhibition des protéines aurora kinase A et B qui sont surexprimées secondairement à l'expression de MYC permet la restitution de l'apoptose cellulaire. En phase I, l'inhibition sélective d'aurora kinase A par l'alisertib chez des patients réfractaires est bénéfique.<sup>121</sup> L'inhibition de BET bromodomain a aussi son intérêt sur les signaux de transduction liés au gène *MYC*. Deux molécules GSK525762 et CPI0610 feront l'objet d'étude en Phase I (essais cliniques NCT01943851 et NCT01949883).

Les innovations thérapeutiques récentes tels que les BiTES (anticorps bispécifique) (essai clinique NCT02454270) et les CART cells (*chimeric antigen receptor T cells* : lymphocytes T cytotoxiques modifiés) (essai clinique NCT02737085) visant à restituer l'immunité anti-tumorale font l'objet d'essais pour les LBDGC réfractaires.

Une meilleure compréhension et identification des patients à mauvais pronostic de survie est primordial. L'avenir nous fournira les nouveaux traitements cibles pour la prise en charge de ces lymphomes de mauvais pronostic.

# ANNEXES

*Annexe 1: Classification d'Ann Arbor (Lister et al., 1989)*

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 sus et sous diaphragmatiques. IIS : avec atteinte splénique. IIIE : avec atteinte extra-ganglionnaire localisée.
Stade IV	Atteinte viscérale avec au moins une atteinte ganglionnaire, ou atteinte médullaire.
A : absence de symptôme B, B : présence de symptômes B (amaigrissement inexplicé de plus de 10 % du poids du corps en moins de 6 mois ou une fièvre inexplicée >38°C de plus de 8 jours ou des sueurs nocturnes profuses).	

*Annexe 2: Echelle du performans status (Oken, Martin M. M.D.; Creech, Richard H. M.D.; Tormey, Douglass C. M.D., Ph.D.; Horton, John M.D., Ch B.; Davis, Thomas E. M.D.; McFadden, Eleanor T.; Carbone, 1982)*

<b>Indice</b>	<b>Description</b>
0	Asymptomatique
1	Symptomatique, limitation pour les activités physiques soutenues
2	Symptomatique, alitement moins de 50% de la journée
3	Symptomatique, alitement plus de 50% de la journée
4	Alitement permanent
5	Décès



<b>Mature B-cell neoplasms</b>
Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma
B-cell prolymphocytic leukemia
Splenic marginal zone lymphoma
Hairy cell leukemia
Splenic lymphoma/leukemia, unclassifiable*
Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma*
Hairy cell leukemia variant*
Lymphoplasmacytic lymphoma
Waldenström macroglobulinemia
Heavy chain diseases
α Heavy chain disease
γ Heavy chain disease
μ Heavy chain disease
Plasma cell myeloma
Solitary plasmacytoma of bone
Extrasosseous plasmacytoma
Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)
Nodal marginal zone lymphoma
Pediatric nodal marginal zone lymphoma*
Follicular lymphoma
Pediatric follicular lymphoma*
Primary cutaneous follicle centre lymphoma
Mantle cell lymphoma
Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), NOS
T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma
Primary DLBCL of the CNS
Primary cutaneous DLBCL, leg type
EBV-positive DLBCL of the elderly*
DLBCL associated with chronic inflammation
Lymphomatoid granulomatosis
Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma
Intravascular large B-cell lymphoma
ALK-positive large B-cell lymphoma
Plasmablastic lymphoma
Large B-cell lymphoma arising in HHV8-associated multicentric Castlemann disease
Primary effusion lymphoma
Burkitt lymphoma
B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma
B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and classical Hodgkin lymphoma

<b>Mature B-cell neoplasms</b>
Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma
Monoclonal B-cell lymphocytosis*
B-cell prolymphocytic leukemia
Splenic marginal zone lymphoma
Hairy cell leukemia
<i>Splenic B-cell lymphoma/leukemia, unclassifiable</i>
<i>Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma</i>
<i>Hairy cell leukemia-variant</i>
Lymphoplasmacytic lymphoma
Waldenström macroglobulinemia
Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), IgM*
μ heavy-chain disease
γ heavy-chain disease
α heavy-chain disease
Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), IgG/A*
Plasma cell myeloma
Solitary plasmacytoma of bone
Extraosseous plasmacytoma
Monoclonal immunoglobulin deposition diseases*
Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)
Nodal marginal zone lymphoma
<i>Pediatric nodal marginal zone lymphoma</i>
Follicular lymphoma
In situ follicular neoplasia*
Duodenal-type follicular lymphoma*
Pediatric-type follicular lymphoma*
<i>Large B-cell lymphoma with IRF4 rearrangement*</i>
Primary cutaneous follicle center lymphoma
Mantle cell lymphoma
In situ mantle cell neoplasia*
Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), NOS
Germinal center B-cell type*
Activated B-cell type*
T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma
Primary DLBCL of the central nervous system (CNS)
Primary cutaneous DLBCL, leg type
EBV <sup>+</sup> DLBCL, NOS*
<i>EBV<sup>+</sup> mucocutaneous ulcer*</i>
DLBCL associated with chronic inflammation
Lymphomatoid granulomatosis
Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma
Intravascular large B-cell lymphoma
ALK <sup>+</sup> large B-cell lymphoma
Plasmablastic lymphoma
Primary effusion lymphoma
HHV8 <sup>+</sup> DLBCL, NOS*
Burkitt lymphoma
<i>Burkitt-like lymphoma with 11q aberration*</i>
High-grade B-cell lymphoma, with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements*
High-grade B-cell lymphoma, NOS*
B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and classical Hodgkin lymphoma

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 Küppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. *Nat Rev Cancer* 2005; **5**: 251–262.
- 2 Lossos IS. Molecular pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2005; **23**: 6351–6357.
- 3 Grønbaek K, Straten PT, Ralfkiaer E, Ahrenkiel V *et al.* Somatic Fas mutations in non-Hodgkin's lymphoma: association with extranodal disease and autoimmunity. *Blood* 1998; **92**: 3018–3024.
- 4 Grønbaek K, Worm J, Ralfkiaer E, Ahrenkiel V *et al.* ATM mutations are associated with inactivation of the ARF-TP53 tumor suppressor pathway in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2002; **100**: 1430–1437.
- 5 Osada M, Ishioka C, Ichinohasama R, Kadowaki I *et al.* Influence of p53 mutation on pathological grade, but not prognosis of non-Hodgkin's lymphoma. *Anticancer Drug Des* 1999; **14**: 107–114.
- 6 Sehn LH, Gascoyne RD. Diffuse large B-cell lymphoma: optimising outcome in the context of clinical and biological heterogeneity. *Blood* 2015; **125**: 22–32.
- 7 Parekh S, Polo JM, Shaknovich R, Juszczynski P *et al.* BCL6 programs lymphoma cells for survival and differentiation through distinct biochemical mechanisms. *Blood* 2007; **110**: 2067–2074.
- 8 Houldsworth J, Mathew S, Rao PH, Dyomina K *et al.* REL proto-oncogene is frequently amplified in extranodal diffuse large cell lymphoma. *Blood* 1996; **87**: 25–29.
- 9 Nakahara Y, Nagai H, Kinoshita T, Uchida T *et al.* Mutational analysis of the PTEN/MMAC1 gene in non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* 1998; **12**: 1277–1280.
- 10 Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C *et al.* Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; **403**: 503–511.
- 11 Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM *et al.* The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002; **346**: 1937–1947.
- 12 Davis RE, Ngo VN, Lenz G, Tolar P *et al.* Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature* 2010; **463**: 88–92.
- 13 Lenz G, Staudt LM. Aggressive Lymphomas. *N Engl J Med* 2010; **362**: 1417–1429.
- 14 Davis RE, Brown KD, Siebenlist U, Staudt LM. Constitutive Nuclear Factor  $\kappa$ B activity is required for survival of activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J Exp Med* 2001; **194**: 1861–1874.

- 15 Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S. *et al.* WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC: Lyon 2008.
- 16 Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB, Glatstein E *et al.* Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting. *J Clin Oncol* 1989; **7**: 1630–1636.
- 17 Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J *et al.* Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982; **5**: 649–656.
- 18 Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD *et al.* Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Neoplasia* 2004; **103**: 275–282.
- 19 Choi WWL, Weisenburger DD, Greiner TC, Piris MA *et al.* A New Immunostain algorithm classifies diffuse large B-cell lymphoma into molecular subtypes with high accuracy. *Clin Cancer Res* 2009; **15**: 5494–5502.
- 20 Nyman H, Jerkeman M, Karjalainen-lindsberg ML, Banham AH *et al.* Prognostic impact of activated B-cell focused classification in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP. *Mod Pathol* 2009; **22**: 1094–1101.
- 21 Muris J, Meijer C, Vos W, van Krieken J *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* 2006; **208**: 714–723.
- 22 Natkunam Y, Farinha P, Hsi ED, Hans CP *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* 2008; **26**: 447–454.
- 23 Pfreundschuh M, Trümper L, Österborg A, Pettengell R *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* 2006; **7**: 379–391.
- 24 Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R *et al.* CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002; **346**: 235–242.
- 25 Feugier P, Van Hoof A, Sebban C, Solal-Celigny 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* 2005; **23**: 4117–4126.
- 26 Lamy T, Damaj G, Soubeyran P, Gyan E *et al.* R-CHOP +/-radiotherapy in non-bulky

- limited-stage diffuse large b-cell lymphoma (DLBCL): final results of the prospective randomized phase III 02-03 trial from the LYSA/GOELAMS. *Hematol Oncol* 2017; **35**: 128–129.
- 27 Récher C, Coiffier B, Haioun C, Molina TJ *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* 2011; **378**: 1858–1867.
- 28 Milpied N, Deconinck E, Gaillard F, Delwail V *et al.* Initial Treatment of Aggressive Lymphoma with High-Dose Chemotherapy and Autologous Stem-Cell Support. *N Engl J Med* 2004; **350**: 1287–1295.
- 29 Haioun C, Lepage E, Gisselbrecht C, Salles G *et al.* Survival benefit of high-dose therapy in poor-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma: final analysis of the prospective LNH87-2 protocol-a Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte study. *J Clin Oncol* 2000; **18**: 3025–3030.
- 30 Stiff PJ, Unger JM, Cook JR, Constine LS *et al.* Autologous transplantation as consolidation for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2013; **369**: 1681–1690.
- 31 International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project, Shipp MA, Harrington DP, Anderson JR *et al.* A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1993; **329**: 987–994.
- 32 Ziepert M, Hasenclever D, Kuhnt E, Glass B *et al.* Standard international prognostic index remains a valid predictor of outcome for patients with aggressive CD20+ B-cell lymphoma in the rituximab era. *J Clin Oncol* 2010; **28**: 2373–2380.
- 33 Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, Fitzgerald C *et al.* The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood* 2007; **109**: 1857–1862.
- 34 Zhou Z, Sehn LH, Rademaker AW, Gordon LI *et al.* An enhanced International Prognostic Index (NCCN-IPI) for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the rituximab era. *Blood* 2014; **123**: 837–843.
- 35 Tagawa H, Suguro M, Tsuzuki S, Matsuo K *et al.* Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2005; **106**: 1770–1777.

- 36 Lenz G, Wright GW, Emre NCT, Kohlhammer H *et al.* Molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma arise by distinct genetic pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; **105**: 13520–13525.
- 37 Lenz G, Wright G, Dave SS, Xiao W *et al.* Stromal Gene Signatures in Large-B-Cell Lymphomas. *N Engl J Med* 2008; **359**: 2313–2323.
- 38 Karube K, Campo E. MYC Alterations in diffuse large B-cell lymphomas. *Semin Hematol* 2015; **52**: 97–106.
- 39 Hermine O, Haioun C, Lepage E, d'Agay M *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* 1996; **87**: 265–272.
- 40 Mounier N, Briere J, Gisselbrecht C, Emile J-F *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* 2003; **101**: 4279–4284.
- 41 Kluk MJ, Chapuy B, Sinha P, Roy A *et al.* Immunohistochemical detection of MYC-driven diffuse large B-cell lymphomas. *PLoS One* 2012; **7**: e33813.
- 42 Horn H, Ziepert M, Becher C, Barth TFE *et al.* MYC status in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2013; **121**: 2253–2263.
- 43 Savage KJ, Johnson NA, Ben-neriah S, Connors JM *et al.* MYC gene rearrangements are associated with a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP chemotherapy. *Blood* 2009; **114**: 3533–3537.
- 44 Hummel M, Bentink D, Berger H, Klapper W *et al.* A biologic definition of Burkitt's Lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med* 2006; **354**: 2419–2430.
- 45 Vitolo U, Gaidano G, Botto B, Volpe G *et al.* Rearrangements of bcl-6, bcl-2, c-myc and 6q deletion in B-diffuse large-cell lymphoma: clinical relevance in 71 patients. *Ann Oncol* 1998; **9**: 55–61.
- 46 Cheah CY, Oki Y, Westin JR, Turturro F. A clinician's guide to double hit lymphomas. *Br J Haematol* 2015; **168**: 784–795.
- 47 Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL *et al.* The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016; **127**: 2375–2391.
- 48 Friedberg JW. How I treat double hit lymphoma. *Blood* 2017; **130**: 590–596.
- 49 Tzankov A, Xu-Monette ZY, Gerhard M, Visco C *et al.* Rearrangements of MYC gene

- facilitate risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with rituximab-CHOP. *Mod Pathol* 2014; **27**: 958–971.
- 50 Barrans S, Crouch S, Smith A, Turner K *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* 2010; **28**: 3360–3365.
- 51 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* 2009; **23**: 777–783.
- 52 Snuderl M, Kolman OK, Chen Y-B, Hsu JJ *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* 2010; **34**: 327–340.
- 53 Le Gouill S, Talmant P, Touzeau C, Moreau A *et al.* The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(14;18) and 8q24/c-MYC rearrangement. *Haematologica* 2007; **92**: 1335–1342.
- 54 Johnson NA, Savage KJ, Ludkovski O, Ben-neriah S *et al.* Lymphomas with concurrent BCL2 and MYC translocations: the critical factors associated with survival. *Blood* 2013; **114**: 2273–2279.
- 55 Pedersen MØ, Gang AO, Poulsen TS, Knudsen H *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* 2012; **89**: 63–71.
- 56 Oki Y, Noorani M, Lin P, Davis RE *et al.* Double hit lymphoma: the MD Anderson Cancer Center clinical experience. *Br J Haematol* 2014; **166**: 891–901.
- 57 Petrich AM, Gandhi M, Jovanovic B, Castillo JJ *et al.* Impact of induction regimen and stem cell transplantation on outcomes in patients with double-hit lymphoma: a large multicenter retrospective analysis. *Blood* 2014; **124**: 2354-2361.
- 58 Aukema SM, Siebert R, Schuurin E, Imhoff GW Van *et al.* Double-hit B-cell lymphomas. *Hematology* 2011; **117**: 2319–2331.
- 59 Bertrand P, Bastard C, Maingonnat C, Jardin F *et al.* Mapping of MYC breakpoints in 8q24 rearrangements involving non-immunoglobulin partners in B-cell lymphomas. *Leukemia* 2007; **21**: 515–523.
- 60 Tomita N, Tokunaka M, Nakamura N, Takeuchi K *et al.* Clinicopathological features of lymphoma/leukemia patients carrying both BCL2 and MYC translocations.

- Haematologica* 2009; **94**: 935–943.
- 61 Macpherson N, Lesack D, Klasa R, Horsman D *et al.* Small noncleaved, non-Burkitt's (Burkit-Like) lymphoma: cytogenetics predict outcome and reflect clinical presentation. *J Clin Oncol* 1999; **17**: 1558–1567.
- 62 Meyer N, Penn LZ. Reflecting on 25 years with MYC. *Nat Rev Cancer* 2008; **8**: 976–990.
- 63 Dominguez-Sola D, Victora GD, Ying CY, Phan RT *et al.* The proto-oncogene MYC is required for selection in the germinal center and cyclic reentry. *Nat Immunol* 2012; **13**: 1083–1091.
- 64 Calado DP, Sasaki Y, Godinho SA, Pellerin A *et al.* The cell-cycle regulator c-Myc is essential for the formation and maintenance of germinal centers. *Nat Immunol* 2012; **13**: 1092–1100.
- 65 Ott G, Rosenwald A, Campo E. Understanding MYC-driven aggressive B-cell lymphomas : pathogenesis and classification. *Blood* 2013; **122**: 3884–3891.
- 66 Srinivasan SV, Dominguez-Sola D, Wang LC, Hyrien O, Gautier J. Cdc45 is a critical effector of Myc-dependent DNA replication stress. *Cell Rep* 2013; **3**: 1629–1639.
- 67 Johnson NA, Savage KJ, Ludkovski O, Ben-Neriah S *et al.* Lymphomas with concurrent BCL2 and MYC translocations: the critical factors associated with survival. *Blood* 2009; **114**: 2273–2279.
- 68 Boxer LM, Dang C V. Translocations involving c-myc and c-myc function. *Oncogene* 2001; **20**: 5595–5610.
- 69 Valera A, López-Guillermo A, Cardesa-Salzman T, Climent F *et al.* MYC protein expression and genetic alterations have prognostic impact in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Haematologica* 2013; **98**: 1554–1562.
- 70 Stasik CJ, Nitta H, Zhang W, Mosher CH *et al.* Increased MYC gene copy number correlates with increased mRNA levels in diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica* 2010; **95**: 597–603.
- 71 Pasqualucci L, Neumeister P, Goossens T, Nanjangud G *et al.* Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature* 2001; **412**: 341–346.
- 72 Saito M, Novak U, Piovan E, Basso K *et al.* BCL6 suppression of BCL2 via Miz1 and its disruption in diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106**: 11294–11299.



- 73 Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC *et al.* Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science* 1984; **226**: 1097–1099.
- 74 Nunez G, Seto M, Seremetis S, Ferrero D *et al.* Growth- and tumor-promoting effects of deregulated BCL2 in human B-lymphoblastoid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; **86**: 4589–4593.
- 75 Janz S, Potter M, Rabkin CS. Lymphoma- and leukemia-associated chromosomal translocations in healthy individuals. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; **36**: 211–223.
- 76 Cattoretti G, Chang CC, Cechova K, Zhang J *et al.* BCL-6 protein is expressed in germinal-center B cells. *Blood* 1995; **86**: 45–53.
- 77 Ye BH, Cattoretti G, Shen Q, Zhang J *et al.* The BCL-6 proto-oncogene controls germinal-centre formation and Th2-type inflammation. *Nat Genet* 1997; **16**: 161–170.
- 78 Dent AL, Shaffer AL, Yu X, Allman D *et al.* Control of inflammation, cytokine expression, and germinal center formation by BCL-6. *Science* 1997; **276**: 589–592.
- 79 Basso K, Saito M, Sumazin P, Margolin AA *et al.* Integrated biochemical and computational approach identifies BCL6 direct target genes controlling multiple pathways in normal germinal center B cells. *Blood* 2010; **115**: 975–984.
- 80 Shaffer AL, Yu X, He Y, Boldrick J *et al.* BCL-6 represses genes that function in lymphocyte differentiation, inflammation, and cell cycle control. *Immunity* 2000; **13**: 199–212.
- 81 Kuo TC, Shaffer AL, Haddad J, Choi YS *et al.* Repression of BCL-6 is required for the formation of human memory B cells in vitro. *J Exp Med* 2007; **204**: 819–830.
- 82 Tunyaplin C, Shaffer AL, Angelin-Duclos CD, Yu X *et al.* Direct repression of *prdm1* by Bcl-6 inhibits plasmacytic differentiation. *J Immunol* 2004; **173**: 1158–1165.
- 83 Cattoretti G, Pasqualucci L, Ballon G, Tam W *et al.* Deregulated BCL6 expression recapitulates the pathogenesis of human diffuse large B cell lymphomas in mice. *Cancer Cell* 2005; **7**: 445–455.
- 84 Swerdlow SH. Diagnosis of "double hit" diffuse large B-cell lymphoma and B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and Burkitt lymphoma: when and how, FISH versus IHC. *Am Soc Hematol Educ Book* 2014; **1**: 90–99.
- 85 Gine E, Montoto S, Bosch F, Arenillas L. The Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) and the histological subtype are the most important factors to predict histological. *Ann Oncol* 2006; **17**: 1539–1545.

- 86 Dilhuydy M-S, Lamy T, Foussard C, Gressin R *et al.* Front-line high-dose chemotherapy with rituximab showed excellent long-term survival in adults with aggressive large B-cell lymphoma: final results of a Phase II GOELAMS Study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; **16**: 672–677.
- 87 Boehme V, Zeynalova S, Kloess M, Loeffler M *et al.* Incidence and risk factors of central nervous system recurrence in aggressive lymphoma: a survey of 1693 patients treated in protocols of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Ann Oncol* 2006; **18**: 149–157.
- 88 Fletcher CD, Kahl BS. Central nervous system involvement in diffuse large B-cell lymphoma: an analysis of risks and prevention strategies in the post-rituximab era. *Leuk Lymphoma* 2014; **55**: 2228–2240.
- 89 Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD *et al.* Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 2007; **25**: 579–586.
- 90 Meignan M, Gallamini A, Itti E, Barrington S *et al.* Report on the Third International Workshop on interim positron emission tomography in lymphoma held in Menton, France, 26–27 September 2011 and Menton 2011 consensus. *Leuk Lymphoma* 2012; **53**: 1876–1881.
- 91 Green TM, Young KH, Visco C, Xu-Monette ZY *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* 2012; **30**: 3460–3467.
- 92 Landsburg DJ, Nasta SD, Svoboda J, Morrissette JJD *et al.* "Double-Hit" cytogenetic status may not be predicted by baseline clinicopathological characteristics and is highly associated with overall survival in B cell lymphoma patients. *Br J Haematol* 2014; **166**: 369–374.
- 93 Hu S, Xu-Monette ZY, Tzankov A, Green T *et al.* MYC/BCL2 protein coexpression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures: a report from The International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood* 2013; **121**: 4021–4032.
- 94 Li S, Saksena A, Desai P, Xu J *et al.* Prognostic impact of history of follicular lymphoma, induction regimen and stem cell transplant in patients with MYC/BCL2 double hit lymphoma. *Oncotarget* 2016; **7**: 38122–38132.
- 95 Bjorkholm M, Hagberg H, Holte H, Kvaloy S *et al.* Central nervous system occurrence

- in elderly patients with aggressive lymphoma and a long-term follow-up. *Ann Oncol* 2007; **18**: 1085–1089.
- 96 Bernstein SH, Unger JM, LeBlanc M, Friedberg J *et al.* Natural history of CNS relapse in patients with aggressive non-hodgkin's lymphoma: a 20-year follow-up analysis of SWOG 8516—The Southwest Oncology Group. *J Clin Oncol* 2009; **27**: 114–119.
- 97 Hegde U, Filie A, Little R, Janik J *et al.* High incidence of occult leptomeningeal disease detected by flow cytometry in newly diagnosed aggressive B-cell lymphomas at risk for central nervous system involvement: the role of flow cytometry versus cytology. *Blood* 2005; **105**: 496–503.
- 98 Schmitz N, Zeynalova S, Glass B, Kaiser U *et al.* CNS disease in younger patients with aggressive B-cell lymphoma: an analysis of patients treated on the Mabthera International Trial and trials of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group. *Ann Oncol* 2012; **23**: 1267–1273.
- 99 Savage KJ, Slack GW, Mottok A, Sehn LH *et al.* Impact of dual expression of MYC and BCL2 by immunohistochemistry on the risk of CNS relapse in DLBCL. *Blood* 2016; **127**: 2182–2188.
- 100 Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, Connors JM *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* 2012; **30**: 3452–3459.
- 101 Pillai RK, Sathanoori M, Van Oss SB, Swerdlow SH. Double-hit B-cell lymphomas with BCL6 and MYC translocations are aggressive, frequently extranodal lymphomas distinct from BCL2 double-hit B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol* 2013; **37**: 323–332.
- 102 Aukema SM, Kreuz M, Kohler CW, Rosolowski M *et al.* Biological characterization of adult MYC-translocation-positive mature B-cell lymphomas other than molecular Burkitt lymphoma. *Haematologica* 2014; **99**: 726–735.
- 103 Visco C, Li Y, Xu-Monette ZY, Miranda RN *et al.* Comprehensive gene expression profiling and immunohistochemical studies support application of immunophenotypic algorithm for molecular subtype classification in diffuse large B-cell lymphoma: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Leukemia* 2012; **26**: 2103–2113.
- 104 Dunleavy K, Grant C, Wilson WH. Using biologic predictive factors to direct therapy of diffuse large B-cell lymphoma. *Ther Adv Hematol* 2013; **4**: 43–57.

- 105 Copie-Bergman C, Cuillière-Dartigues P, Baia M, Briere J *et al.* MYC-IG rearrangements are negative predictors of survival in DLBCL patients treated with immunochemotherapy: A GELA/LYSA study. *Blood* 2015; **126**: 2466–2474.
- 106 Landsburg DJ, Falkiewicz MK, Petrich AM, Chu BA *et al.* Sole rearrangement but not amplification of *MYC* is associated with a poor prognosis in patients with diffuse large B cell lymphoma and B cell lymphoma unclassifiable. *Br J Haematol* 2016; **175**: 631–640.
- 107 Mationg-Kalaw E, Tan LHC, Tay K, Lim ST *et al.* Does the proliferation fraction help identify mature B cell lymphomas with double- and triple-hit translocations? *Histopathology* 2012; **61**: 1214–1218.
- 108 Jo Molina T, Canioni D, Copie-Bergman C, Recher C *et al.* Young patients with non-germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma benefit from intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab compared with CHOP plus rituximab: analysis of data from the Groupe d’Etudes des Lymphomes de l’Adulte/Lymp. *J Clin Oncol* 2014; **32**: 3996–4003.
- 109 Wang XJ, Medeiros LJ, Lin P, Yin CC *et al.* MYC cytogenetic status correlates with expression and has prognostic significance in patients with MYC/BCL2 protein double-positive diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2015; **39**: 1250–1258.
- 110 Tzankov A, Zlobec I, Went P, Robl H *et al.* Prognostic immunophenotypic biomarker studies in diffuse large B cell lymphoma with special emphasis on rational determination of cut-off scores. *Leuk Lymphoma* 2010; **51**: 199–212.
- 111 Salles G, De Jong D, Xie W, Rosenwald A *et al.* Prognostic significance of immunohistochemical biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma: a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *Blood* 2011; **117**: 7070–7078.
- 112 Pedersen M, Gang AO, Poulsen TS, Knudsen H *et al.* MYC translocation partner gene determines survival of patients with large B-cell lymphoma with MYC- or double-hit MYC/BCL2 translocations. *Eur J Haematol* 2014; **92**: 42–48.
- 113 Perry AM, Alvarado-Bernal Y, Laurini JA, Lynette M *et al.* MYC and BCL2 protein expression predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *Br J Haematol* 2014; **165**: 382–391.
- 114 Ennishi D, Mottok A, Ben-Neriah S, Shulha HP *et al.* Genetic profiling of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma determines cell-of-origin-specific clinical impact. *Blood* 2017; **129**: 2760–2770.

- 115 Green TM, Nielsen O, de Stricker K, Xu-Monette ZY *et al.* High levels of nuclear MYC protein predict the presence of MYC rearrangement in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2012; **36**: 612–619.
- 116 Boerma EG, Siebert R, Kluin PM, Baudis M. Translocations involving 8q24 in Burkitt lymphoma and other malignant lymphomas: a historical review of cytogenetics in the light of today's knowledge. *Rev Leuk* 2009; **23**: 225–234.
- 117 Smith SM, Anastasi J, Cohen KS, Godley LA. The impact of MYC expression in lymphoma biology: Beyond Burkitt lymphoma. *Blood Cells Mol Dis* 2010; **45**: 317–323.
- 118 Klapper W, Stoecklein H, Zeynalova S, Ott G *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* 2008; **22**: 2226–2229.
- 119 Dave SS, Fu K, Wright GW, Lam LT *et al.* Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med* 2006; **354**: 2431–2442.
- 120 Copie-Bergman C, Gaulard P, Leroy K, Briere J *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* 2009; **27**: 5573–5579.
- 121 Friedberg JW, Mahadevan D, Cebula E, Persky D *et al.* Phase II study of alisertib, a selective Aurora A kinase inhibitor, in relapsed and refractory aggressive B- and T-cell non-Hodgkin lymphomas. *J Clin Oncol* 2014; **32**: 44–50.

**Vu, le Directeur de Thèse**

**Tours**

**Vu, le Doyen  
De la Faculté de Médecine de**

**Tours, le**

## RESUME

La révision de 2016 de la classification OMS des lymphomes définit une nouvelle entité de lymphomes agressifs intitulés lymphomes de haut grade avec translocation impliquant les gènes *MYC-BCL2* et/ou *BCL6* (aussi appelés lymphomes « double-hit »), représentant moins de 10% des lymphomes B diffus à grandes cellules (LBDGC). Ces lymphomes sont agressifs et nécessitent des traitements intensifs. Des questions persistent concernant la stratégie pour diagnostiquer ces lymphomes et l'impact des thérapeutiques intensives sur la survie des patients. Notre étude rétrospective réalisée sur le centre hospitalier universitaire de Tours de 2012 à 2015 a inclus au total 42 patients dont : 9 patients avec LBDGC « double-hit » traités de manière intensive, 4 patients avec LBDGC avec double expression de *MYC-BCL2* et 29 patients LBDGL, NOS *de novo* de stade  $\geq$ II, âgés de moins de 70 ans. Les patients avec lymphomes double-hit ont une présentation initiale comparable à celle des patients LBDGC NOS : 22% présentent un *performans status*  $\geq$ 2 (contre 14%) ; 89% ont un stade III et IV (contre 86%) ; 56% présentent au moins deux localisations extra-ganglionnaires (contre 55%) ; 100% ont un taux de LDH élevés (contre 83%) ; 89% ont un score IPI élevé (contre 62%). Nous avons observé que les lymphomes double-hit étaient plus fréquemment de type GC (89% contre 43%). 89% des patients double-hit ont reçu un traitement intensif contre 17% dans le groupe LBDGC, NOS, et 6 patients ont été autogreffés. Sur une durée médiane de suivi de 22 mois [5-58], 3 patients ont rechuté, dont une rechute neuro-méningée, et 11 sont décédés. Leur survie globale à 2 ans est plus courte : 53% pour les lymphomes double-hit, 50% pour les lymphomes double-expresser contre 84% chez les patients LBDGC, NOS ( $p=0.052$ ). Cette étude confirme d'une part la rareté de ces lymphomes et d'autre part leur mauvais pronostic. Afin de définir les facteurs prédictifs des lymphomes double-hit et pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques il serait nécessaire d'envisager de réaliser des études prospectives incluant un plus grand nombre de patients.

## DRIEU LA ROCHELLE Laurianne

109 pages – 19 figures 9 tableaux – 4 annexes

### Résumé :

La révision de 2016 de la classification OMS des lymphomes définit une nouvelle entité de lymphomes agressifs intitulés lymphomes de haut grade avec translocation impliquant les gènes *MYC-BCL2* et/ou *BCL6* (aussi appelés lymphomes « double-hit »), représentant moins de 10% des lymphomes B diffus à grandes cellules (LBDGC). Ces lymphomes sont agressifs et nécessitent des traitements intensifs. Des questions persistent concernant la stratégie pour diagnostiquer ces lymphomes et l'impact des thérapeutiques intensives sur la survie des patients. Notre étude rétrospective réalisée sur le centre hospitalier universitaire de Tours de 2012 à 2015 a inclus au total 42 patients dont : 9 patients avec LBDGC « double-hit » traités de manière intensive, 4 patients avec LBDGC avec double expression de *MYC-BCL2* et 29 patients LBDGL, NOS *de novo* de stade  $\geq$ II, âgés de moins de 70 ans. Les patients avec lymphomes double-hit ont une présentation initiale comparable à celle des patients LBDGC NOS : 22% présentent un *performans status*  $\geq$ 2 (contre 14%) ; 89% ont un stade III et IV (contre 86%) ; 56% présentent au moins deux localisations extra-ganglionnaires (contre 55%) ; 100% ont un taux de LDH élevés (contre 83%) ; 89% ont un score IPI élevé (contre 62%). Nous avons observé que les lymphomes double-hit étaient plus fréquemment de type GC (89% contre 43%). 89% des patients double-hit ont reçu un traitement intensif contre 17% dans le groupe LBDGC, NOS, et 6 patients ont été autogreffés. Sur une durée médiane de suivi de 22 mois [5-58], 3 patients ont rechuté, dont une rechute neuro-méningée, et 11 sont décédés. Leur survie globale à 2 ans est plus courte : 53% pour les lymphomes double-hit, 50% pour les lymphomes double-expresser contre 84% chez les patients LBDGC, NOS ( $p=0.052$ ). Cette étude confirme d'une part la rareté de ces lymphomes et d'autre part leur mauvais pronostic. Afin de définir les facteurs prédictifs des lymphomes double-hit et pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques il serait nécessaire d'envisager de réaliser des études prospectives incluant un plus grand nombre de patients.

### Mots clés :

Lymphome B diffus à grandes cellules, réarrangement *MYC*, réarrangement *BCL2*, réarrangement *BCL6*, double-hit, chimiothérapie intensive

### Jury :

Président du Jury : Professeur Philippe COLOMBAT

Directeur de thèse : Docteur Marjan ERTAULT DE LA BRETONNIERE

Membres du Jury : Professeur Emmanuel GYAN

: Professeur Olivier HERAULT

: Docteur Flavie ARBION

:

: Date de soutenance : 26 septembre 2017