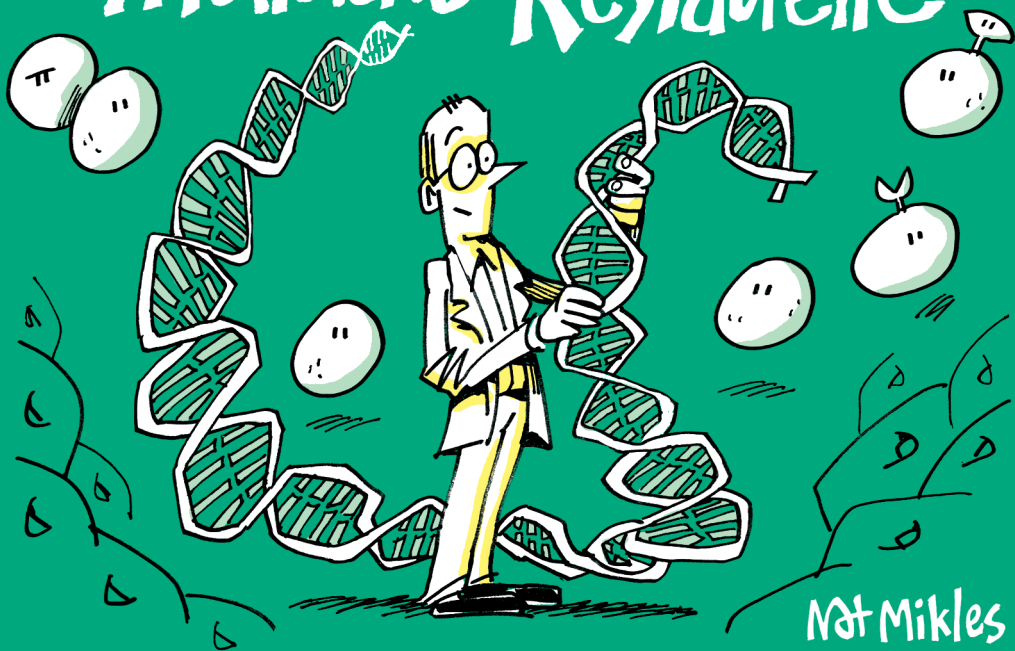


Lymphocytes et vous?...



Mutations & Maladie Résiduelle



Nat Mikles

Pour mieux comprendre la LLC et la Maladie de Waldenström, l'association SILLC a déjà créé deux bandes dessinées : *Contre vents et marées* qui retrace l'impact de l'annonce de la maladie sur le malade et son entourage familial et professionnel, et *Lymphocytez-vous !* qui décrit de manière approfondie la biologie et l'ensemble des examens nécessaires au diagnostic et au suivi de la LLC ou de la MW.

Cette troisième BD, *Mutations et Maladie Résiduelle*, s'intéresse au patient dont la LLC devient symptomatique et pour laquelle il y a alors lieu de prévoir un traitement.

Les propositions thérapeutiques de l'hématologue s'appuient sur différents critères (âge, état général, traitements antérieurs, comorbidités, etc...) mais aussi sur certaines caractéristiques du lymphocyte que vous découvrirez au fil de ces pages. A l'issue du traitement, pour en apprécier l'efficacité, on cherchera à détecter le petit reste de lymphocytes anormaux restés en circulation dans le sang: c'est la maladie résiduelle, dénommée MRD (acronyme anglais de *Minimal Residual Disease*).

C'est au déroulé de ces phases clinique et biologique que cette troisième BD vous invite.

Bonne lecture.

Christian Puppinck
Président de SILLC

SILLC

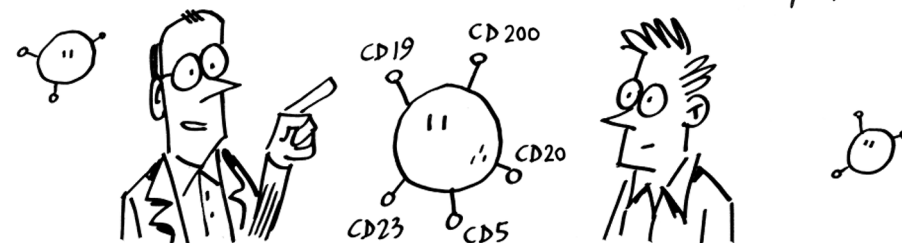
Bonjour Vincent, nous nous connaissons maintenant depuis quelques années, depuis que nous avons réalisé votre diagnostic de LLC. Aujourd'hui, vos symptômes ayant évolué, il est temps de penser à mettre en route un traitement. Je vais donc vous expliquer le déroulé des examens qui permettent après un traitement d'apprécier son efficacité, de prévoir le risque de rechute et d'adapter la thérapeutique.



Pour cela, reprenons le fil des examens qui ont permis d'établir le diagnostic et le bilan avant traitement.

L'IMMUNOPHÉNOTYPAGE

On a commencé par étudier certains marqueurs présents à la surface de vos lymphocytes.



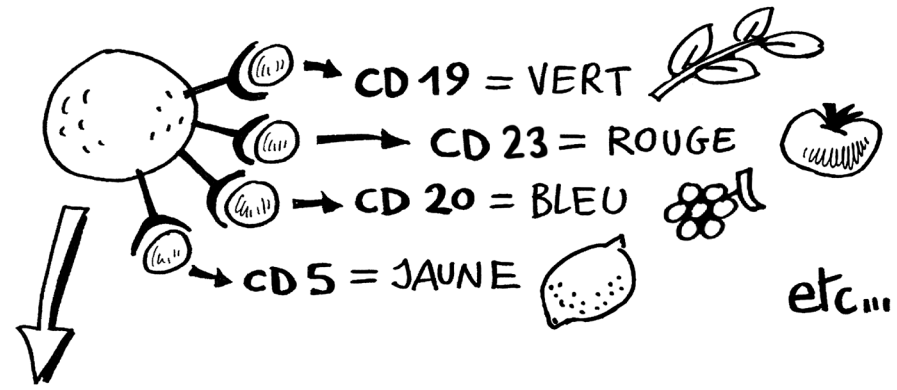
#1 Pour cela, on a fait une prise de sang...



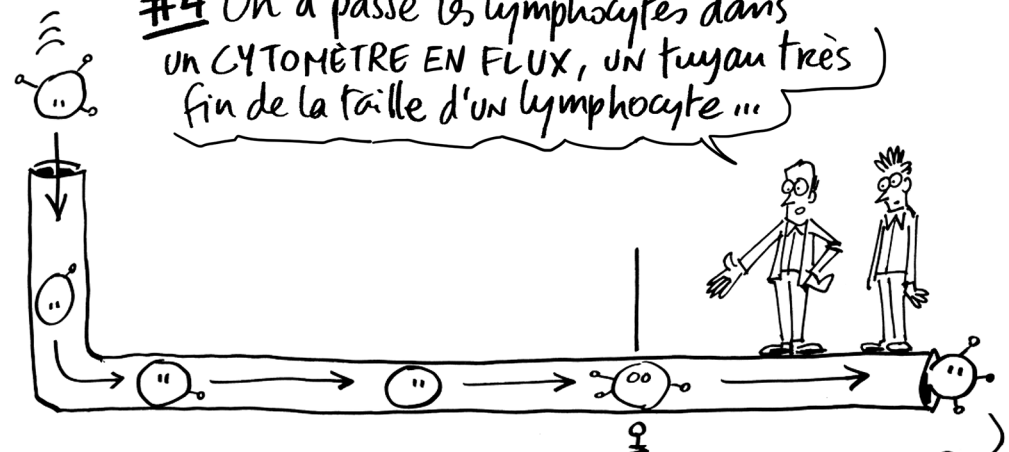
#2 On a récupéré les globules blancs et on y a ajouté des anticorps marqués avec des fluorochromes.



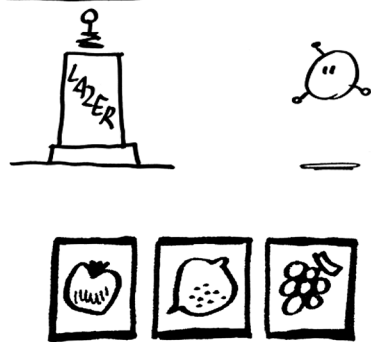
#3 le FLUOROCHROME est une substance qui teinte les anticorps. Ils vont se coller aux antigènes et colorer différemment chaque lymphocyte.



#4 On a passé les lymphocytes dans un CYTOMÈTRE EN FLUX, un tuyau très fin de la taille d'un lymphocyte...



... où un laser a compté chaque cellule grâce à la fluorescence émise et repéré jusqu'à 10 couleurs différentes.

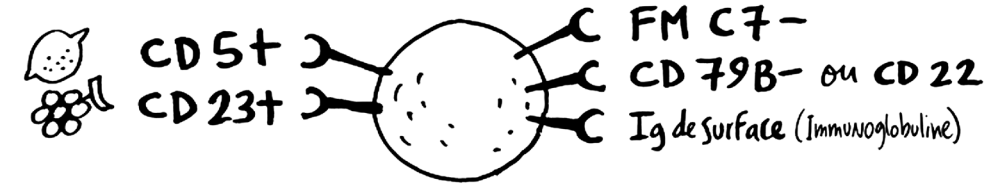


La présence ou non de 5 marqueurs spécifiques détermine la présence ou non de cellules malades.

Ces marqueurs sont en trop.

ou

Ces marqueurs sont absents ou diminués



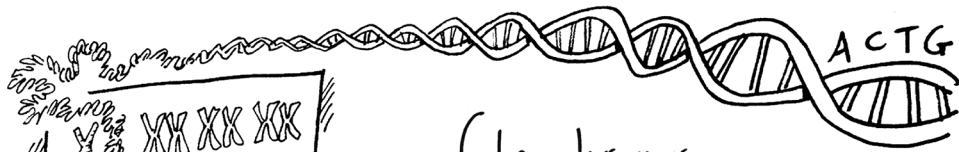
C'est ainsi que l'on obtient "LE SCORE DE MATUTÈS", un chiffre supérieur ou égal à 4 indique une LLC.

Lorsqu'il y a plus de 5000 cellules CD 19+ par mm³ dans le sang et un score de Matutès supérieur ou égal à 4, IL S'AGIT D'UNE LLC. C'est ce qu'on a vu pour vous.



Après traitement, un autre rôle important de l'immunophénotypage sera de repérer la présence éventuelle de cellules résiduelles de LLC. On parle alors de "MALADIE RÉSIDUELLE!"

Avec **UNE RECHERCHE SUR L'ADN**, on peut aller beaucoup plus loin pour comprendre la cause de la Maladie Résiduelle.



Les chromosomes sont constitués d'ADN compacté en pelote. Pour étudier les anomalies du chromosome et des gènes, nous réalisons un deuxième examen sur l'ADN du lymphocyte.

ANOMALIE DES CHROMOSOMES

Utilisé en association avec la réalisation d'un caryotype, la technique FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) permet de révéler les anomalies chromosomiques et orienter le traitement.

La perte de la partie p du chromosome 17 (17p) ou de la partie q du chromosome 11 (11q) est associée à un pronostic DÉFAVORABLE.



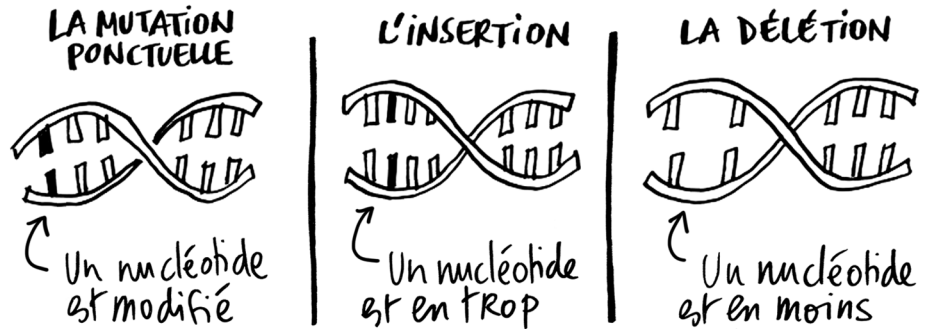
La perte de la partie q du chromosome 13 (13q) suggère un pronostic plus FAVORABLE.



ANOMALIE DES GÈNES

L'ADN est constitué d'une suite de séquences de NUCLÉOTIDES appelées GÈNES.

Une erreur d'une lettre dans le code peut déstabiliser toute la chaîne. Il existe 3 anomalies différentes:



Pour analyser les anomalies des gènes:

#1 Là encore, on passe le sang à la centrifugeuse.



#2 On ajoute une solution d'enzymes qui va digérer les lymphocytes et libérer leur ADN.



#3 On récupère un brin d'ADN qu'on va placer dans une machine capable de le recopier des milliers de fois pour le rendre lisible, puis la lecture se fait par un séquenceur. c'est la PCR: Polymerase Chain Reaction.

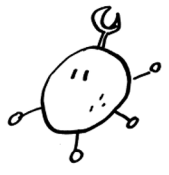




Le séquençage de l'ADN nous indique deux éléments fondamentaux: les mutations somatiques d'IGHV et les anomalies de TP53.

LES MUTATIONS D'IGHV

Au cours de sa maturation, certains nucléotides de l'ADN du lymphocyte B peuvent présenter une mutation. Les caractéristiques de immunoglobulins de surface sont issus de ces mutations.



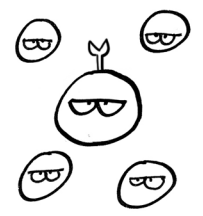
Une mutation du gène IGHV induit une modification du Récepteur B ou BCR.

Le statut mutationnel du gène IGHV, invariant tout au long de la maladie détermine

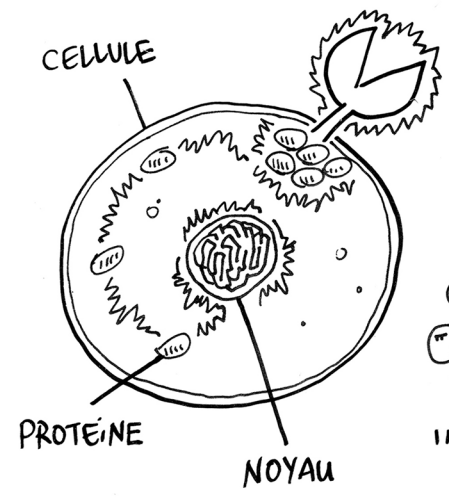
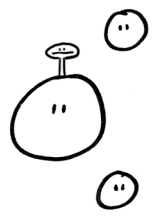


2 TYPES DE MALADES DE LA LLC:

La LLC avec IGHV **NON MUTÉ**



La LLC avec IGHV **MUTÉ**



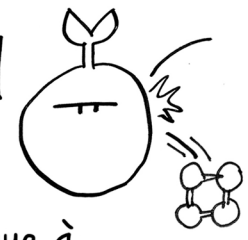
Le BCR permet de passer des signaux de l'extérieur vers l'intérieur du lymphocyte B.

Dans les LLC IGHV **NON MUTÉES**, le BCR envoie des messages " de prolifération " alors que dans les LLC **MUTÉES**, ces messages sont moins forts.

La Recherche du statut mutationnel IGHV est un examen très important dans le bilan, car prédictif de la dynamique du lymphocyte et de sa réponse au traitement.

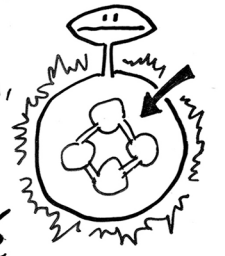
IGHV **NON MUTÉ**

aura une réponse moins longue à l'immuno-chimiothérapie.



IGHV **MUTÉ**

peut bénéficier, en première intention, d'une immuno-chimiothérapie avec la probabilité d'une bonne réponse à long terme.



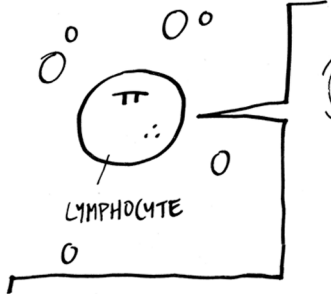
Cette technique de recherche est bien établie et assez facilement accessible partout en France



" et permet d'établir un pronostic pertinent de la maladie! "

TP 53, QU'EST-CE QUE C'EST?

Nos cellules sont composées d'un grand nombre de protéines, qui assurent des fonctions très différentes:



(Contrôle de l'ADN!)



LA PROTÉINE P53 est la gardienne de l'ensemble des gènes.



Voyons voir si tout est en ordre!!!



Elle est au centre des mécanismes de RÉPARATION ou de DESTRUCTION de l'ADN.



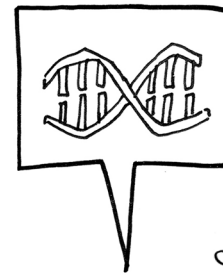
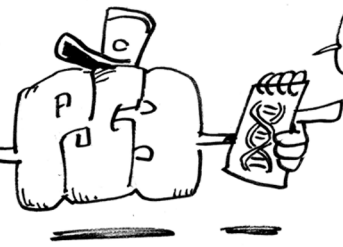
On va régler tout ça vite fait bien fait.

(Réparation par ici.)

(Destruction par là.)



Oui chef!



TP53 désigne le gène de la protéine P53. Comme nous l'avons vu, la présence de nucléotides anormaux entraîne l'apparition de protéines incomplètes ou anormales. Si P53 n'est plus fonctionnelle, les cellules anormales vont s'accumuler.

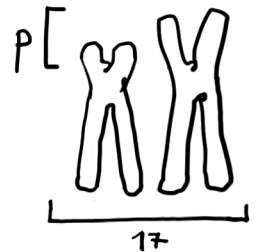
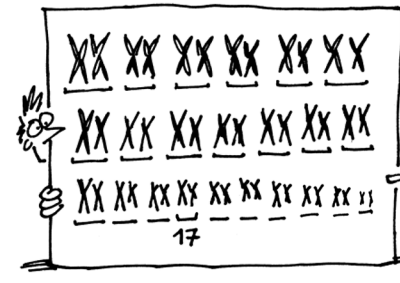


(Eh chef?)

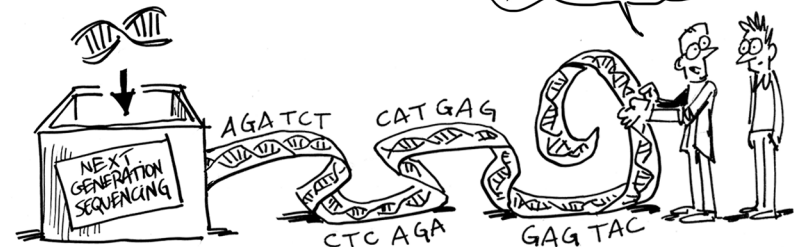
Qu'est-ce qu'on fait?

P53 est altérée dans 2 cas =

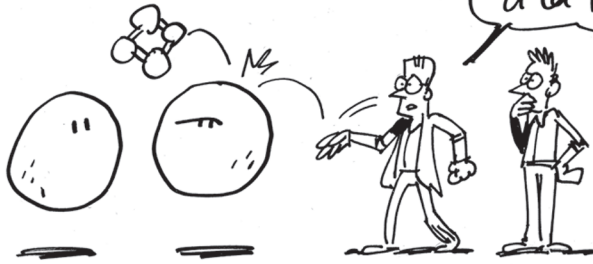
#1 = Il manque un morceau du chromosome sur lequel le gène TP53 est présent. C'est la délétion 17p que l'on peut observer sur le caryotype.



#2 = le gène TP53 est **MUTÉ**, ce qui rend la P53 inactive. La recherche de mutation se fait par séquençage pour savoir où se trouve l'anomalie sur l'ADN et quel nucléotide a muté.



Les cellules porteuses de cette anomalie ne sont pas sensibles à la FLUDARABINE.

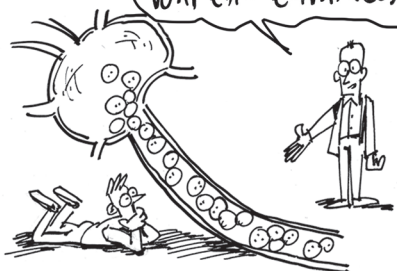


Et c'est grave docteur?

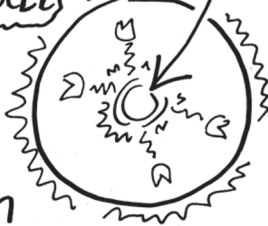
Dans ce cas, on utilise d'autres médicaments.



qui vont cibler la protéine **BTK** sous la membrane du BCR pour empêcher les cellules de se fixer et de se multiplier dans le ganglion. Les cellules de LLC étant incapables de proliférer dans le sang, elles vont être éliminées.



qui vont cibler certaines protéines complexes telles que **BCL2** et vont activer l'auto-destruction de la cellule (APOPTOSE).



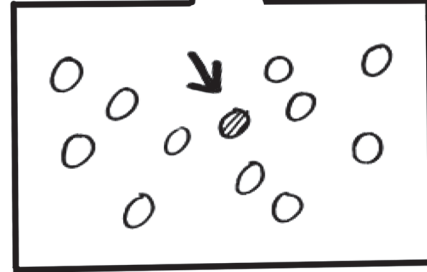
Après chaque nouveau traitement, on fait une analyse de TP53, car des mutations peuvent apparaître.

LA MRD

La MRD, ou Minimal Residual Disease, consiste à détecter de façon très précise si il reste des traces de la maladie APRÈS un traitement.



Cet examen est fait à partir d'une prise de sang, en utilisant les techniques décrites précédemment.



La maladie résiduelle est le critère le plus puissant pour traduire la rémission ou la rechute après traitement. C'EST UN MARQUEUR D'EFFICACITÉ.

Les résultats varient en fonction des personnes...

Si il n'y a plus du tout de lymphocytes de LLC, on très peu, après traitement, c'est un très bon résultat!

Je suis tranquille pour longtemps!

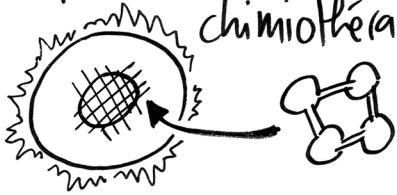


En effet, et nous sommes capables de détecter une cellule malade parmi un million de cellules saines!

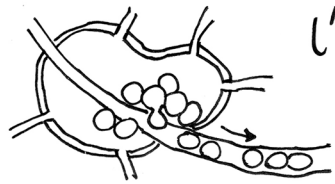


Est-ce qu'un examen de MRD est utile après un traitement, quelque soit le médicament utilisé?

La MRD est utile lorsqu'il y a destruction cellulaire :
Après une immuno-chimiothérapie



Après un traitement par Venetoclax qui induit directement l'apoptose.

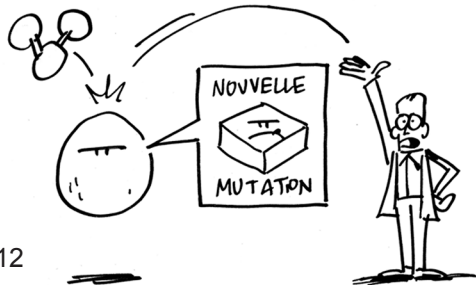


L'Ibrutinib ne détruit pas directement les cellules, donc la MRD n'est pas utile dans ce cas.

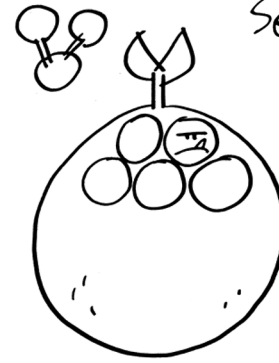
Est-ce qu'on va rechercher la MRD chez moi?



Pas forcément! Ce sera plutôt pour le suivi d'un protocole ou pour interrompre le traitement par Venetoclax si la réponse est très bonne.

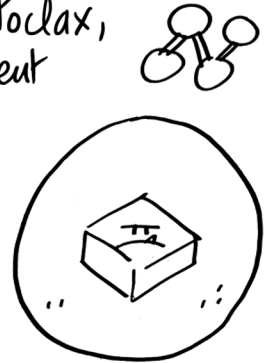


Mais il peut arriver que les quelques cellules qui subsistent après un traitement deviennent résistantes à celui-ci. On recherche alors l'existence d'une mutation favorisant le développement du clone résistant.



Sous Ibrutinib, la cellule peut développer une mutation de la protéine BTK.

Sous Venetoclax, la cellule peut développer une mutation de la protéine BCL2



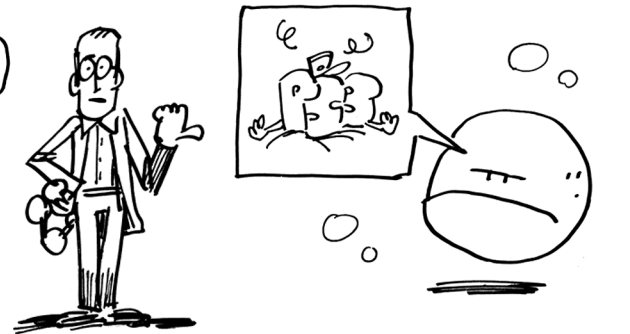
EN RÉSUMÉ

Comme nous venons de le voir, toutes les mutations n'ont pas la même signification.

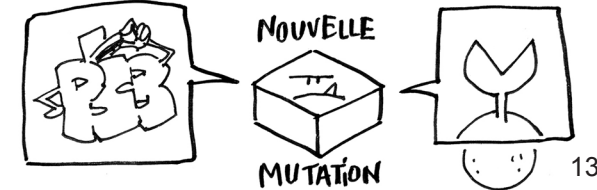
Un **IGHV MUTÉ** nous permettra d'avoir de bons résultats avec la chimio et permet d'envisager en plus d'autres traitements.



La **P53 MUTÉE** Rend la cellule résistante à la fludarabine et ne nous permet pas de faire une chimiothérapie. Il faut nécessairement utiliser d'autres traitements.



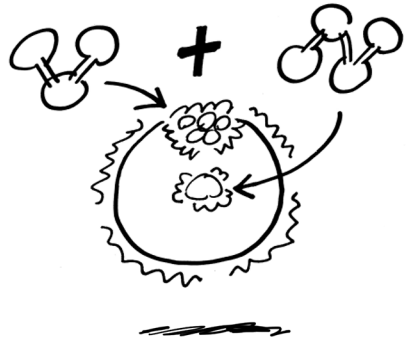
Les mutations possibles de BTK ou de BCL2 rendent la cellule résistante à Ibrutinib ou Venetoclax.



Plusieurs études sont en cours pour éviter la résistance au traitement.



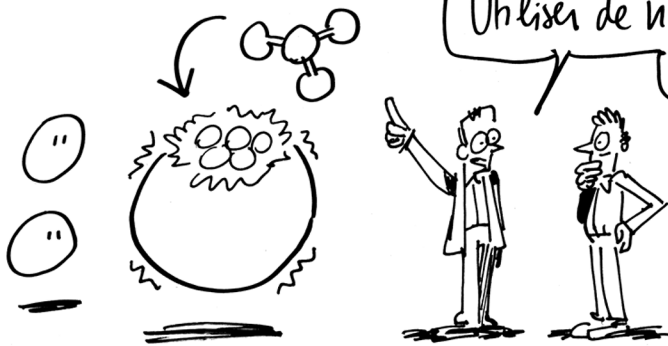
Associer l'Ibrutinib avec le Venetoclax



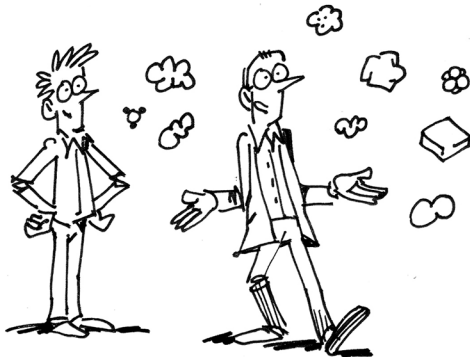
Arrêter le Venetoclax lorsqu'une bonne réponse est obtenue...



Utiliser de nouveaux inhibiteurs de BTK qui agissent différemment de l'Ibrutinib.



Grâce à la recherche, l'identification de nouvelles protéines nous permet de mieux comprendre la maladie.



Le séquençage est aussi une voie d'avenir...



... le traitement sera ciblé en fonction des mutations et son efficacité pourra être vérifiée par la maladie résiduelle ...

Afin d'évaluer la qualité de réponse au traitement

{ ... anticiper le risque de rechute }



... et adapter de nouvelles solutions thérapeutiques!

Voilà comment nous allons procéder, j'espère avoir été clair, on a pour vous différentes solutions thérapeutiques et on se reverra après le bilan pour faire les meilleurs choix ensemble.



Des progrès sont faits chaque jour grâce au travail de la recherche et des professionnels de santé.

Donc... A suivre!

L'association **SILLC** (Association de Soutien et d'Information à la Leucémie Lymphoïde Chronique et la maladie de Waldenström) est ouverte aux patients, à leur famille, à leurs proches ainsi qu'aux professionnels de santé. Nous remercions toutes celles et ceux qui ont apporté savoir et exigence à ce projet: Florence Cymbalista, Fanny Baran-Marszak, Rémi Letestu et Christian Puppink.

Cette publication a été réalisée grâce au soutien institutionnel du laboratoire **ABBVIE**.
Illustrations: Nat Mikles / Impression: Typofset / Achevé d'imprimer à Montreuil, juin 2020.

abbvie **SILLC**

Tout
ce que vous
avez toujours
voulu savoir sur
la maladie résiduelle
sans jamais oser le demander.

