Présentations au meeting annuel de l'Histiocyte Society, Toronto - Canada, le 28 octobre 2014

**PREMIERE UTILISATION DU VEMURAFENIB**

**POUR UN ENFANT ATTEINT D'UNE HISTIOCYTOSE LANGERHANSIENNE**

**MULTIVISCERALE REFRACTAIRE.**

**UN RESULTAT PROMETTEUR**

Parmi les auteurs, ceux que nous avons pris l'habitude de rencontrer au Groupe d'Etude des Histiocytoses :

\* Jean Donadieu – Centre de référence des Histiocytoses, Hl Trousseau, Paris.

\* Sébastien Héritier - Centre de référence des Histiocytoses, Hl Trousseau, Paris et Université de Versailles-Saint Quentin en Yvelines.

\* Jean-François Emile – Anatomopathologiste, Hl Ambroise Paré, Boulogne Billancourt.

Objectif : La mutation BRAF V600E est observée dans la moitié des patients atteints d'une Histiocytose Langerhansienne (HL). Divers inhibiteurs de BRAF ont été utilisés pour des cancers lorsque la mutation BRAF V600E se trouvait être présente.

Afin d'évaluer les inhibiteurs de BRAF dans l'Histiocytose Langerhansienne, un essai thérapeutique se met en place en France. Il vise à inclure les patients BRAF V600E positifs avec une atteinte multisystémique incluant un organe à risque (MS RO+). Il se limite aux patients pour lesquels une induction associant Vinblastine et Stéroïdes n'a pas abaissé le Score d'activité de la maladie qui s'est maintenu supérieur à 5.

Nous décrivons le premier traitement dans un tel cas.

Méthode : Le Vemurafenib a été administré au patient à la dose de 30 mg /kg /jour, par voie orale, en 2 prises quotidiennes, pour un premier cycle de traitement et d'observation clinique de 4 semaines. Il était prévu, en cas de progression de la maladie entre les semaines 2 et 4 de traiter le patient avec des cures de 2-CdA - AraC.

Résultats : Un Histiocytose Langerhansienne est diagnostiqué à l'âge de 2 mois chez une fille présentant une éruption cutanée depuis la naissance. Aussitôt après le diagnostic, la progression (Score égal à 5) et l'extension de la maladie HL (peau, os, rate, disfonctionnement hématologique) ont conduit à entreprendre une induction de Vinblastine et Stéroïdes. Après 2 cures de Vinblastine Stéroïdes le Score s'est maintenu à 5. Une monothérapie avec 2-CdA (5 mg /m² pendant 5 jours) a été instituée. L'évolution au décours de cette cure entre J21 et J28, montré une progression jusqu'à atteindre un Score de 7. Un nouveau traitement de rattrapage s'avérait nécessaire. La mutation BRAF V600E ayant été détectée, cette patiente était éligible pour l'essai thérapeutique avec le Vemurafenib et, après consentement des parents, il a pu débuter.

Au 5ème jour du traitement, le Score a été évalué à 3 et au 14ème jour il est passé à zéro, tandis qu'on observait une amélioration substantielle de l'état général et l'atteinte de tous les organes avec une réduction de la dimension des lésions de 50 à 70 %. La patiente a quitté l'hôpital au vingtième jour, les effets indésirables se limitaient à une éruption cutanée de grade OMS 2.

Conclusion : Le Vemurafenib peut s'avérer très efficace pour lutter contre une maladie HL multisystémique lorsqu'on détecte la mutation BRAF V600E chez le patient. L'étude poursuivie doit permettre de consolider ce premier résultat et d'affiner les doses et la fréquence d'utilisation du produit.

**PREMIERE UTILISATION DU VEMURAFENIB**

**POUR UN ENFANT AVEC UNE ATTEINTE NEURODEGENERATIVE**

**DE L'HISTIOCYTOSE LANGERHANSIENNE**

Parmi les auteurs, ceux que nous avons pris l'habitude de rencontrer au Groupe d'Etude des Histiocytoses :

\* Jean Donadieu – Centre de référence des Histiocytoses, Hl Trousseau, Paris.

\* Khé Hoan-Xuan – Neurologue, Hl Pitié Salpêtrière, Paris.

\* Sébastien Héritier - Centre de référence des Histiocytoses, Hl Trousseau, Paris et Université de Versailles-Saint Quentin en Yvelines.

\* Jean-François Emile – Anatomopathologiste, Hl Ambroise Paré, Boulogne Billancourt.

Objectif : La mutation BRAF V600E est observée dans la moitié des patients atteints d'une Histiocytose Langerhansienne (HL). La présence de cette mutation permet d'attendre un effet des inhibiteurs de BRAF tels que le Vemurafenib. L'atteinte neurodégénérative avec ataxies cérébelleuses et d'autres anomalies neurologiques est une complication redoutée de l'HL pour laquelle les choix thérapeutiques sont restreints.

Nous présentons le traitement d'un patient avec une atteinte neurodégénérative du système nerveux central (HL SNC ND) utilisant le Vemurafenib.

Méthode : L'Histiocytose langerhansienne a été diagnostiquée chez une jeune fille de 2 ans et demi qui présentait des éruptions cutanées et un diabète insipide. L'épaississement de la tige pituitaire a indiqué un traitement de 6 mois avec Vinblastine et Stéroïdes suivant le protocole LCH III recommandé à cette époque. Ce traitement a été repris ensuite pour une année du fait d'une nouvelle poussée de la maladie. Les tissus conservés d'une lésion ont indiqué une mutation BRAF V600E.

A l'âge de 6 ans, une IRM cérébrale montrait des lésions spécifiques d'une atteinte neurodégénérative. Plusieurs traitements consécutifs ont été enchaînés sans succès et sans empêcher la dégradation des fonctions neurologiques : Acide 13 Cis-rétinoïque, injection d'Immunoglobulines. Le Vemurafenib a été proposé aux parents qui ont consenti à ce traitement.

Résultats : Le Vemurafenib a été administré par voie orale à la dose de 15 mg /kg /j en 2 prises quotidiennes, sur une durée de 4 mois. Avant traitement, le test ICAR (score mesurant la gravité du syndrome cérébelleux) était de 67 et la patiente était dans un fauteuil roulant presque toute la journée. Elle avait aussi un syndrome pyramidal sévère. Le seul effet indésirable du traitement a été une panniculite survenue après 1 mois de traitement. Le traitement a été poursuivi. L'évaluation à l'issue du 4ème mois n'a pas montré une amélioration au test ICAR ni une évolution des images IRM, mais la patiente et sa famille ont pu noter que par moment la patiente pouvait marcher sur 2 ou 3 mètres sans aide.

Conclusion : Il s'agit d'un premier cas de traitement d'une atteinte neurodégénérative par Vemurafenib avec un effet subjectif et pas d'effet objectif. Des évaluations plus complètes sont nécessaires pour en évaluer l'efficacité et le profil de toxicité.

**UTILISATION DU 2CDA POUR UN ENFANT  
AVEC UNE ATTEINTE PULMONAIRE KYSTIQUE  
DE L'HISTIOCYTOSE LANGERHANSIENNE**

Les auteurs : Jean Donadieu, Ralph Epaud, Hubert Ducou Le Pointe, Chiara Sileo

de l'Hl Trousseau et du Centre intercommunal de Créteil.

Objectif : Les lésions kystiques pulmonaires lors des atteintes pulmonaires de l'Histiocytose Langerhansienne sont généralement considérées comme des lésions non évolutives, et elles ne paraissent pas susceptibles de régresser sous les traitements connus.

Méthode : Etude de cas.

Résultats :

La patiente est une enfant âgée de 20 mois au moment de la poussée initiale. Au diagnostic, les organes atteints étaient le foie, la peau et les ganglions. Le traitement initial combinait la Vinblastine et des Stéroïdes pour une durée de 15 mois.

La poussée n°2, à l'âge de 3 ans, concernait à nouveau les ganglions et le scanner montrait quelques kystes dans le parenchyme pulmonaire. Un deuxième traitement a été initié avec Vinblastine et Stéroïdes pour 11 mois.

La poussée n°3, à l'âge de 4 ans et 3 mois, concernait le système hypothalamo hypophysaire ; à l'instauration d'un Diabète insipide et d'une atteinte thyroïdienne, le traitement hormonal de substitution a été le seul traitement administré.

La poussée n°4, à l'âge de 8 ans, s'est manifestée par un pneumothorax bilatéral, tandis que les images montraient massivement des kystes dans le poumon. A nouveau, la Vinblastine et les Stéroïdes ont été prescrits, complétés par le Purinéthol, pour une durée de 12 mois.

A la poussée n°5, à l'âge de 13 ans, une dyspnée est apparue évaluée au Stade III dans la classification fonctionnelle de la World Health Organization (WHO).

Sur les épreuves fonctionnelles respiratoires, on enregistre une franche dégradation de la fonction respiratoire: CVF : 27 % de la normale ; VEMS : 22 % de la normale ; le test de marche de 6 min donne un résultat à 40 % de la valeur théorique. Le TDM haute résolution a mis en évidence un grand nombre de kystes à paroi épaisse ainsi que des nodules au médiastin et un pneumomédiastin. Le traitement a consisté alors en 6 cures de Cladribine (2CdA) de 5 jours à la dose de 5 mg /m² ; il a été bien toléré.

Deux ans et demi après le début de ce traitement, la dyspnée a évolué vers le niveau II du classement WHO. De nombreux kystes à paroi épaisse ont disparu sur le TDM haute résolution tandis que le tissu pulmonaire qui contenait ces kystes s'est rétracté. Les valeurs de la CVF et du VEMS se sont améliorées de 53 et 55 % respectivement par rapport à leur valeur avant traitement. Enfin, le test de marche de 6 min est remonté à 76 % de la valeur théorique.

Conclusion : Pour cette enfant qui ne consommait évidemment pas de tabac, la Cladribine s'est avérée un traitement de l'atteinte pulmonaire vraiment efficace sur les aspects clinique et fonctionnel et radiologique.

**CORRELATION DE LA MUTATION DE BRAF**

**AVEC LA NATURE DES ATTEINTES ET LEUR GRAVITE**

**CHEZ L'ENFANT ATTEINT D'HISTIOCYTOSE LANGERHANSIENNE**

Parmi les auteurs, ceux que nous avons pris l'habitude de rencontrer au Groupe d'Etude des Histiocytoses :

\* Sébastien Héritier - Centre de référence des Histiocytoses, Hl Trousseau, Paris et Université de Versailles-Saint Quentin en Yvelines.

\* Jean Donadieu – Centre de référence des Histiocytoses, Hl Trousseau, Paris.

\* Julien Haroche - Maladies Rares, Systémiques, Auto-immunes, Hl Pitié-Salpêtrière, Paris.

\* Jean-François Emile – Anatomopathologiste, Hl Ambroise Paré, Boulogne Billancourt.

\* Caroline Thomas – CHU de Nantes.

\* Mathilde De Menthon – Hl Saint Louis, Paris.

Objet de la Recherche :

En 2010, une mutation BRAF a été détectée chez la moitié d'un groupe de patients atteints d'Histiocytose Langerhansienne (HL). A ce jour, cette mutation de BRAF n'est pas apparue corrélée avec les aspects cliniques de la maladie.

Méthode :

Cette étude, en France, a porté sur 125 enfants (moins de 18 ans) pour lesquels le diagnostic de maladie HL a été validée par un diagnostic histologique et dont les échantillons ont été étudiés par pyroséquençage pour déceler une mutation BRAF. Nous présentons les résultats préliminaires de cette étude.

Résultats :

Les patients présentant une mutation BRAF sont au nombre de 108. Age médian à l'époque du diagnostic : 3,3 ans (échantillon de 0 à 17 ans) ; durée moyenne des observations cliniques sur ces patients : 4,7 ans ; rapport garçons /filles : 1,3.

56 patients (51,8%) avaient une atteinte monosystémique (SS), 21 (19%) des atteintes multisystémiques sans atteinte d'un organe à risque (MS RO-) et 31 (28,7%) des atteintes multisystémiques qui impliquaient un organe à risque (MS RO+).

Les organes atteints sont les os (77%), la peau (37%), le système hypothalamo hypophysaire (18%), le système hématologique (17%), le foie (18%), la rate (15%), des ganglions (15%) et le système nerveux central (SNC) (6%).

7 patients sont décédés ; Des poussées multiples sont survenues pour 40 d'entre eux.

La mutation BRAF (V600E) a été détectée pour 57 patients (52%). Les analyses statistiques à une variable montrent que la mutation BRAF est associée (p<0,01) aux plus jeunes patients (2,1 ans contre 5,7 ans). Elle est aussi associée aux atteintes de la peau (70% contre 30%), à l'atteinte hématologique (26% contre 6%), aux atteintes du foie (26% contre 8%), de la rate (23% contre 6%).   
La proportion de mutation BRAF est de 48% pour les atteintes monosystémiques (SS), 42% pour les patients MS RO- et 68% pour les patients MS RO+, (mais différence non significative). Nous n'avons pas établi une corrélation significative entre la mutation BRAF et les atteintes au système hypothalamo hypophysaire, l'atteinte osseuse, les atteintes pulmonaires, ganglionnaires ni neurologiques. Nous n'avons pas non plus relié cette mutation avec les poussées multiples ou le décès.

Conclusion :

Dans l'Histiocytose Langerhansienne, une mutation BRAF est plus souvent détectée chez les patients présentant un tableau agressif de la maladie : les jeunes enfants avec une atteinte hématologique.

**MUTATIONS FREQUENTES DE RAS ET PIK3CA**

**DANS LA MALADIE D'ERDHEIM·CHESTER**

**ET DANS LE SARCOME HISTIOCYTAIRE**

Parmi les auteurs,

Ceux que nous avons pris l'habitude de rencontrer au Groupe d'Etude des Histiocytoses :

\* Julien Haroche - Maladies Rares, Systémiques, Auto-immunes, Hl Pitié-Salpêtrière, Paris.

\* Jean-François Emile – Anatomopathologiste, Hl Ambroise Paré, Paris.

\* Jean Donadieu – Centre de référence des Histiocytoses, Hl Trousseau, Paris

Et aussi des chercheurs étrangers avec lesquels des résultats ont été partagés :

\* Memorial Sioan Kettering Cancer Center, New York.

\* Shaare Zedek Medical Center, Jerusalem.

Contexte :

La maladie d'Erdheim-Chester (ECD) et l'Histiocytose Langerhansienne (LCH) comportent fréquemment des mutations BRAFV600E et répondent à des inhibiteurs de BRAF dans des études pilotes. Une mutation oncogénique de NRAS (Q61R) a été identifié dans un seul cas d'ECD ne présentant pas par ailleurs de mutation BRAF. La véritable incidence des mutations BRAF V600E dans l'ECD reste incertaine comme la présence d'autres mutations affectant les voies de signalisation MAP kinase et PI3K /AKT reste inconnue .  
  
Méthodes :

A partir d'une cohorte de 80 patients, 25 cas d'ECD et 4 cas de Sarcome histiocytaire (SH) ne présentant pas de mutations BRAF p.V600 ont été analysés pour les mutations dans BRAF, N /K /HRAS, AKT1 et PIK3CA. Les techniques utilisées comprennent les stratégies de Réaction en chaîne par polymérase (RCP) en temps réel pour un allèle, les stratégies de séquençage de nouvelle génération de l'ADN lésionnel, les stratégies de génotypage par spectrométrie de masse Sequenom et les stratégies de RCP numérique multiplexée en microgoutelettes.

Résultats :

Chez 8 patients ECD une mutation BRAFV600E a pu être identifiée. Parmi les patients de type BRAF p.V600 sauvage (non muté), 3 présentaient des mutations NRAS (NRASG12D, NRASQ61K, NRASQ61R) et, pour 3 autres, des mutations PIK3CA (PIK3CAE542K, PIK3CAE545K, PIK3CAA1046T) ont été retrouvés. Un quatrième cas de mutation PIK3CA a également été détecté parmi les cas muté BRAF V600E (PIK3CAH1047R). En outre, on a procédé à l'analyse génétique des cellules CD14+ purifiées par tri des cellules mononucléaires du sang périphérique en Cytométrie de flux (FACS) double marquage pour un patient mutant NRASQ61 R. L'analyse a révélé clairement la présence de la mutation NRAS dans les cellules CD14+, mais pas dans les cellules CD3+.  
  
Conclusion:

Dans l'ensemble, l'utilisation de plusieurs méthodes pour détecter une mutation BRAF permet d'identifier une fréquence mutationnelle BRAFV600E de 57,5% (46/80) chez les patients ECD. L'identification des mutations NRAS récurrentes dans les patients ECD avec BRAF de type sauvage affirme le rôle central de RAS /RAF /MEK /ERK comme une voie commune majeure dans ce type d'histiocytose. De plus, la découverte de mutations NRAS et PIK3CA récurrentes implique l'importance de la voie de signalisation PI3K /AKT /mTOR dans l'ECD. La détection d'une mutation ARN dans les cellules mononucléaires du sang périphérique suggère en outre que les proliférations histiocytaires dans l'ECD sont dérivées de cellules hématopoïétiques myéloïdes circulantes, génétiquement aberrantes.