

Profil immunophénotypique des leucémies aiguës lymphoblastiques chez l'enfant

Immunophenotypic profile of acute lymphoblastic leukemia in children

Imane Tlamçani¹
Soukaina Oudrhiri
Benaaddach²
Meryem Abddaoui³
Sarra Benmiloud⁴
Moustapha Hida⁵
Moncef Amrani Hassani⁶

¹ Médecin biologiste au laboratoire d'hématologie du CHU Hassan II de Fès <imane.tlamcani@usmba.ac.ma>

² Médecin résidente en biologie médicale au CHU Hassan II de Fès

³ Phd student à l'unité de cytométrie en flux au laboratoire d'hématologie du CHU Hassan II de Fès

⁴ Professeur d'enseignement supérieur en pédiatrie au CHU Hassan II de Fès <benmiloudsarra@yahoo.fr>

⁵ Professeur d'enseignement supérieur en pédiatrie au CHU Hassan II de Fès

⁶ Professeur d'enseignement supérieur en hématologie au CHU Hassan II de Fès

Résumé.

Introduction: La leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) est le cancer le plus fréquent en pédiatrie. L'immunophénotypage est une étape essentielle aussi bien pour l'établissement du diagnostic que pour l'évaluation du pronostic des leucémies aiguës lymphoblastiques. L'objectif de notre travail est de déterminer le profil immunophénotypique de ces leucémies aiguës chez les enfants suivis dans notre centre hospitalier universitaire (CHU) et de rechercher d'éventuels phénotypes aberrants.

Matériel et méthodes: Il s'agit d'une étude transversale portant sur les cas de LAL ayant répondu aux critères d'inclusion, suivis au sein de l'unité d'hémo-oncologie pédiatrique du CHU Hassan II de Fès sur une période de 5ans et 8mois et dont l'immunophénotypage a été réalisé à l'unité de cytométrie en flux au laboratoire d'hématologie du même CHU.

Résultats: Parmi 143 cas de LAL colligés, nous avons retenu 83 dossiers. L'analyse immunophénotypique a permis leur classification en 2 catégories : LAL B (84,3 %) et LAL T (15,7 %), le sex-ratio H/F est de 1,24 avec prédominance masculine dans les LAL T. La moyenne d'âge des patients est de $6,3 \pm 4,2$ ans, les enfants âgés de plus de 10 ans sont majoritairement atteints de LAL T. Tous les patients ont présenté au moins une anomalie de l'hémogramme. Il s'agit d'une anémie dans 100 % des cas, une thrombopénie dans 85,5 % des cas et une hyperleucocytose dans 60 % des cas. La pancytopenie a été notée chez 15,7 % des patients qui sont tous des LAL B. Les blastes circulants ont été présents dans 86,6 % des cas. L'étude du myélogramme a objectivé une moelle hypercellulaire dans 77,1 % des cas. Toutes les cellules de la lignée B ont exprimé les marqueurs CD19, CD79a, CD22, IgM et CD20. L'expression du marqueur d'immaturité CD10 a été notée dans 58 cas de LAL B (82,8 %). Toutes les cellules blastiques de type T ont exprimé les antigènes CD7 de surface et les antigènes CD3. Le CD10 a été retrouvé dans 2 cas (15,4 %) et absent dans 11 cas (84,6 %). L'expression de l'antigène myéloïde CD13 et/ou CD33 a été présente dans 49,4 % des cas. La rémission complète a été obtenue dans 82,8 % et 76,9 % des LAL B et T respectivement et la rechute a été notée dans 20,7 % et 40 % des cas successivement. Le taux de décès de toutes les LAL dans notre série est de 28,9 %, (24,3 % pour les LAL B et de 53,8 % pour les LAL T).

Conclusion: La répartition des LAL pédiatriques dans notre étude est similaire à celle des séries occidentales. L'analyse des caractéristiques cliniques, biologiques et évolutives des différents phénotypes des patients est corrélée à celle de la littérature. La comparaison de nos données avec celles des autres auteurs devrait contribuer à mieux identifier les facteurs pronostiques et améliorer la survie.

Mots clés : immunophénotypage lymphocytaire, leucémie aiguë, diagnostic, enfant

Abstract.

Introduction: Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common cancer in pediatrics. Immunophenotyping is an essential step for diagnosis and prognosis of acute lymphoblastic leukemias. Our objective is to determine the immunophenotypic profile of these acute leukemias in children followed in our university hospital and to look for possible aberrant phenotypes.

Material and methods: This is a cross-sectional study of ALL cases that met the inclusion criteria, followed in the Pediatric Hematology-Oncology Unit of Hassan II University Hospital in Fez over a period of 5 years and 8 months and whose immunogenotyping was performed at the flow cytometry unit in the hematology laboratory of the same hospital.

Results: Among 143 ALL cases collected, we selected 83 files. The immunophenotypic analysis allowed their classification in 2 categories: ALL B (84.3%) and ALL T (15.7%), the sex ratio H/F is 1.24 with male predominance in ALL T. The average age of patients is 6.3 ± 4.2 years, children over the age of 10 years are predominantly affected by ALL T. All patients had at least one abnormality of the blood count. It is anemia in 100% of cases, thrombocytopenia in 85.5% of cases and leukocytosis in 60% of cases. Pancytopenia was noted in 15.7 % of all ALL B patients. Circulating blasts were present in 86.6 % of cases. The study of the myelogram

mtp

Tirés à part : I. Tlamçani

objectified a hypercellular marrow in 77,1% of the cases. All B cells expressed CD19, CD79a, CD22, IgM and CD20 markers. Expression of the CD10 immaturity marker was noted in 58 cases of ALL B (82.8%). All T-type blast cells expressed surface CD7 antigens and CD3 antigens. CD10 was found in 2 cases (15.4%) and absent in 11 cases (84.6%). Expression of myeloid antigen CD13 and/or CD33 was present in 49.4% of cases. Complete remission was obtained in 82.8% and 76.9% of ALL B and T respectively and the relapse was noted in 20.7% and 40% of cases successively. The death rate for all ALL in this series is 28.9%, (24.3% for ALL B and 53.8% for ALL T).

Conclusion: The distribution of pediatric ALL in our study is similar to that of occidental series. The analysis of the clinical, biological and evolutionary characteristics of the different phenotypes of the patients is correlated with that of the literature. Comparing our data with those of other authors should help to better identify prognostic factors and improve survival.

Key words: immunophenotyping lymphocyte, acute leukemia, diagnosis, child

Introduction

La leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) est le cancer le plus fréquent chez l'enfant. Elle représente environ un quart de tous les cancers chez les moins de 15 ans et est environ cinq fois plus prédominante que la leucémie aiguë myéloïde (LAM).

Le diagnostic de la LAL est évoqué lors de la mise en évidence de cellules blastiques à l'examen morphologique d'un frottis de sang ou de moelle, dans un contexte d'hyperleucocytose ou au contraire de cytopénie périphérique, avec ou sans syndrome tumoral ou autres manifestations cliniques évocatrices [1].

Des techniques spécifiques telles que la cytométrie en flux, la cytogénétique, la biologie moléculaire occupent une place cruciale dans la confirmation diagnostique, mais aussi dans l'instauration du traitement et le suivi de la maladie résiduelle après traitement [2].

L'immunophénotypage, complément indispensable de l'examen morphologique des cellules au microscope, est devenu une étape incontournable du diagnostic des LAL. Il permet de confirmer la lignée cellulaire engagée dans le processus leucémique et de préciser le stade de blocage des blastes dans leur différenciation [3, 4].

L'objectif de ce travail est de déterminer le profil immunophénotypique des LAL B et T chez les enfants diagnostiqués au sein de l'unité d'hémo-oncologie pédiatrique du Centre Hospitalo-universitaire (CHU) Hassan II de Fès, de rechercher chez eux d'éventuels phénotypes aberrants et de les comparer aux données de la littérature.

Patients et méthodes

Patients

Il s'agit d'une étude transversale réalisée au laboratoire d'hématologie du CHU Hassan II de Fès en collaboration avec l'unité d'hémo-oncologie pédiatrique (UHOPF) portant sur tous les patients atteints de LAL sur une période de 5 ans et 8 mois s'étalant du 1^{er} janvier 2011 jusqu'au 31 août 2016.

Toutes les données concernant les aspects épidémiologiques, cliniques, biologiques, immunophénotypiques et évolutifs de ces leucémies ont été recueillies à partir des dossiers des enfants admis à l'unité d'hémo-oncologie pédiatrique du CHU Hassan II. L'immunophénotypage a été réalisé sur des échantillons de moelle osseuse ou de sang périphérique à l'unité de cytométrie en flux du laboratoire d'hématologie du même CHU.

– Critères d'inclusion : nous avons inclus tous les cas de LAL ayant bénéficié d'une étude immunophénotypique et suivis au sein de l'unité d'hémo-oncologie pédiatrique du CHU Hassan II de Fès.

– Critères d'exclusion : nous avons exclu de l'étude les patients qui ont été transférés à un autre centre spécialisé, les perdus de vue avant l'étude immunophénotypique et les patients dont le dossier est incomplet (pas de profil immunophénotypique) ou non retrouvé.

Méthodes :

Sources de collecte des données

Le recueil des données a été établi rétrospectivement à partir des dossiers des patients, leurs fiches de prescriptions médicales et celles des bilans.

Fiche d'exploitation

Nous avons établi une fiche d'exploitation pour chaque patient comprenant : les données générales, les caractéristiques cliniques au diagnostic, les éléments du diagnostic biologique, le traitement reçu, les évaluations biologiques au cours des différentes étapes du traitement, la survenue d'une rechute, l'évolution des patients aux dernières nouvelles.

Éléments diagnostiques et classifications des LAL

L'hémogramme a été réalisé à l'aide de l'automate Sysmex XE 5000 sur des échantillons de sang veineux prélevés sur des tubes EDTA (acide éthylène diamine tétracétique).

Les frottis de sang et de la moelle ont été colorés au MGG (May-Grünwald-Giemsa). Le diagnostic de leucémie aiguë a été porté dès que le taux de blastes dépassait les 20 % dans la moelle osseuse, selon les critères de la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) 2008 [1, 2]. La recherche de l'activité myélopé-

roxydasique par la technique à la pyronine a été appliquée sur un frottis de moelle dès que l'aspect myéloïde n'était pas évident. Elle a été considérée négative si moins de 3 % de blastes étaient peroxydase positive.

L'immunophénotypage a été réalisé sur des échantillons de sang médullaire ou de sang périphérique en fonction de l'envahissement, sur des tubes EDTA à l'aide d'un cymomètre en flux Cytomics FC 500 (Beckman Coulter) qui possède un large panel d'anticorps monoclonaux appartenant aux différentes lignées hématopoïétiques. Pour ce fait, le score de l'EGIL a été utilisé comme référentiel.

Après la confirmation du diagnostic et établissement de la classification de LAL, tous les patients ont été mis sous traitement selon le protocole MARALL 2006 [5].

Analyse statistique

Nous avons d'abord effectué une analyse descriptive des données concernant l'âge, le sexe, les signes cliniques et biologiques, le type de leucémie, les marqueurs immunologiques exprimés dans chaque type de leucémie et l'évolution de chacune d'elle. L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel Epi info version 7.

Résultats

Aspects épidémiologiques

Durant la période d'étude, nous avons colligé 143 cas de LAL et retenu 83 dossiers répondant aux critères d'inclusion. Les dossiers exclus sont ceux des patients transférés à un autre centre spécialisé (n = 39), ceux chez qui le diagnostic cytologique de LAL a été retenu et ont été perdus de vue avant la réalisation de l'étude immunophénotypique (n = 3), les dossiers ne renfermant pas le profil immunophénotypique (n = 13) et ceux manquants (n = 5). Après l'analyse des dossiers inclus dans cette étude, nous avons retrouvé 70 cas de LAL B (84,3 %) et 13 cas de LAL T (15,7 %).

Caractéristiques sociodémographiques

Parmi les enfants présentant une LAL, 46 sont des garçons (55,4 %) et 37 sont des filles (44,6 %) avec un sex-ratio H/F de 1,24. Dans la LAL B, nous avons noté la présence de 35 garçons et de 35 filles avec un sex-ratio H/F de 1. Sur les 13 cas de LAL T, nous avons retrouvé 11 garçons et 2 filles avec un sex-ratio H/F de 5,5. En comparaison à la LAL B, la LAL T est caractérisée par une prédominance masculine avec une différence statistiquement significative (P = 0,02). L'âge moyen des patients est de $6,3 \pm 4,2$ ans avec des extrêmes d'âge de 3 mois et de 15,2 ans. Les enfants âgés moins de 1 an et entre 1 et 10 ans représentent 4,8 % et 72,3 % des cas res-

pectivement. Ils ont tous une LAL B. Ceux âgés plus de 10 ans représentent 22,9 %, il s'agit de 6 cas de LAL B (7,2 %) et 13 cas de LAL T (15,7 %) avec une association significative sur le plan statistique (P = 0,043). Les enfants provenant de la zone urbaine représentent 43,4 % et ceux de la zone rurale 56,6 %. La majorité des patients de notre série sont issus d'un niveau socio-économique bas (82 %), ceux ayant un niveau socio-économique moyen ne représentent que 18 %. Les patients indigents ayant une couverture RAMED (Régime d'Assistance Médicale) représentent (66/83) 79,5 %, ceux bénéficiant d'une assurance maladie et les payants représentent (15/83) 18 % et (2/83) 2,5 % respectivement.

Aspects diagnostiques

Données cliniques

Les signes cliniques ont été enregistrés chez tous les patients. Le syndrome tumoral a été retrouvé dans 89,2 % des cas, la fièvre dans 54,2 % et le syndrome d'insuffisance médullaire dans 62,7 %. L'association de cette symptomatologie avec les LAL n'est pas significative statistiquement (p = 0,55). La masse médiastinale a été plus présente dans les LAL T (11 cas ; 84,6 %) que les LAL B (4 cas ; 5,7 %) avec une différence statistiquement significative (p = 0,04). Les douleurs osseuses ont été observées chez seulement 5 patients (6 %) et l'atteinte neurologique dans 1,2 % des cas atteints de LAL B mais sans signification statistique (p = 0,84). Aucun cas d'infiltration des organes génitaux externes n'a été noté.

Données biologiques

Hémogramme et frottis sanguin

Tous les patients ont présenté au moins une anomalie de l'hémogramme. Une anémie a été observée chez tous les patients avec un taux moyen d'hémoglobine de $7 \pm 2,7$ g/dL [2, 6-9] (6,95 g/dL pour LAL B et 8,46 g/dL pour LAL T) et une thrombopénie chez 71 patients (85,5 %) avec une moyenne de $47 529/\text{mm}^3$. Une hyperleucocytose a été retrouvée chez 50 patients (60,2 %) et une leucopénie chez 12 patients (14,4 %) qui sont tous des LAL B. Parmi les patients qui ont une hyperleucocytose, 37 sont des LAL B (44,5 %) et 13 des LAL T (15,5 %). Les formes fortement hyperleucocytaires ($> 100 000 \text{ GB}/\text{mm}^3$) ont représenté 16,9 % des cas dont 1 cas de LAL B (1,20 %) et 13 de LAL T (15,7 %), ce qui est statistiquement significatif (P < 0,0001). La pancytopénie a été notée chez 15,7 % des patients, tous des LAL B. Les blastes circulants ont été présents chez 72 patients (86,6 %) avec un taux médian de $40,1 \pm 31,3$ % [0-98]. La répartition de taux de blastes périphériques en fonction du type de leucémie est de $37,1 \pm 23,4$ % [2-80] pour les cas de LAL B (59 cas) et $56,1 \pm 7,4$ % [80-98] pour ceux de LAL T (13 cas) (tableau 1).

Tableau 1. Données de l'hémogramme des LAL B et LAL T de notre étude.

Paramètres	LAL B N = 70		LAL T N = 13		P
	Mini-Max	Moyenne	Mini-Max	Moyenne	
Hémoglobine (g/dL)	2,6-9	6,95	7,4-9,7	8,46	< 0,001
Leucocytes (GB/mm ³) :					
< 4 000	880-3 900	2 065			
4 000-10 000	4 000-10 000	7 160			
10 000-100 000	10 280-100 000	38 716			
> 100 000	117 520	117 520	120 300-283 517	197 500	
Plaquettes (/mm ³)	3 000-85 000	65 259	9 000-86 000	29 800	
Blastes au frottis sanguin (%)	2-80	37,1	80-98	56,1	

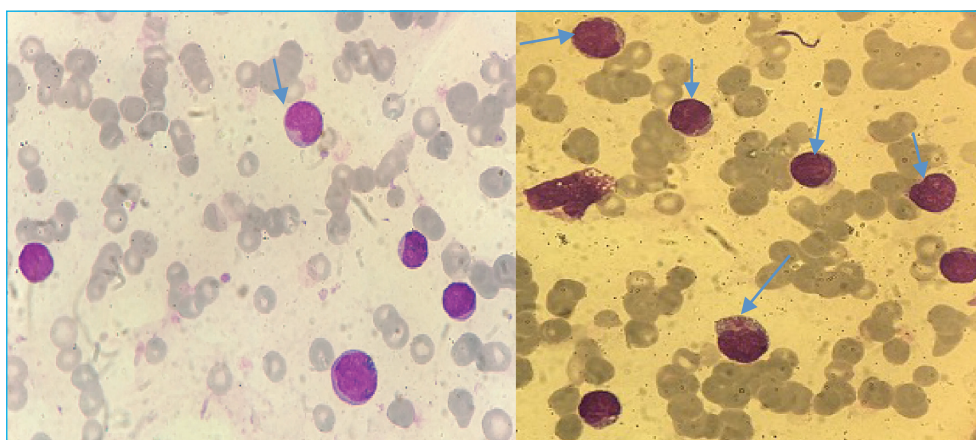


Figure 1. Frottis médullaire coloré au MGG montrant des blastes indifférenciés (Objectif × 100) (Coll. Laboratoire d'hématologie, CHU Hassan II de Fès).

Myélogramme

L'étude du myélogramme a objectivé une moelle hypercellulaire dans 77,1 % des cas avec un taux moyen de blastes de $78,13 \pm 17,60$ % [23-100]. Ce taux est de $77,6 \pm 17,1$ % [23-95] dans la LAL B versus $96,5 \pm 1,5$ % [95-100] dans la LAL T (figure 1). La coloration cytochimique à la myéloperoxydase (MPO) des frottis médullaires a été négative chez tous les patients (figure 2).

Immunophénotypage

– LAL de la lignée B : toutes les cellules de la lignée B ont exprimé les marqueurs CD19, CD79a, CD22, IgM et CD20 avec des taux médians de 76,9 %, 75,9 %, 68,7 %, 61,4 % et 49,4 % respectivement. L'expression du marqueur d'immaturité CD10 a été notée dans 58 cas de LAL

B (82,8 %) (figure 3). Parmi les 70 enfants atteints de LAL B étudiés avec un sexe ratio H/F de 1 et une moyenne d'âge de $5,9 \pm 2,9$ ans [0,3-12]. L'expression du CD10 dans les LAL B est associée à un âge moins de 10 ans et à une leucocytose variable.

– LAL de la lignée T : presque toutes les cellules T testées ont des antigènes CD7 de surface (91,5 %) et des antigènes CD3 (76,6 %). Le CD5 et le CD4 ont été détectés dans 64,5 % et 26,1 % des cas respectivement. Le CD10 a été retrouvé dans 2 cas (15,4 %) et absent dans 11 (84,6 %). Aucun des antigènes associés aux cellules B n'a été exprimé sur les cellules T (figure 3). Parmi les 13 enfants atteints de LAL T, le sex-ratio est de 5,5. Leur âge varie de 12 à 15,2 ans et un âge moyen de $13,9 \pm 1,1$ ans.

Expression du CD 10 : l'expression de CD10 dans les LAL B a été présente chez tous les patients âgés de moins

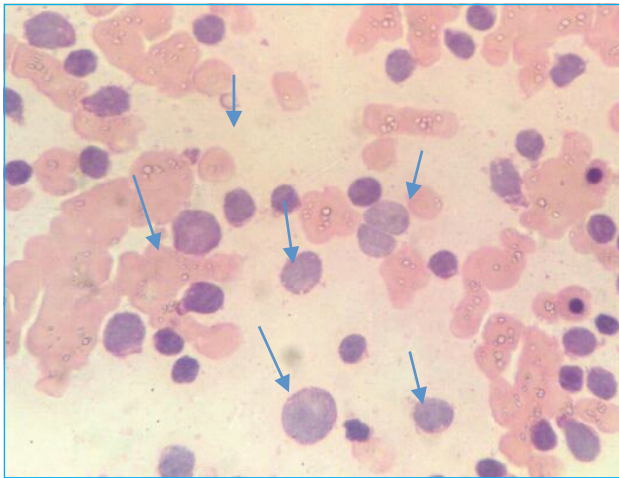


Figure 2. Frottis médullaire montrant des blastes à MPO négative (Objectif $\times 100$) (Coll. Laboratoire d'hématologie, CHU Hassan II de Fès).

d'un an et chez 65,1 % de ceux âgés entre 1 à 10 ans, ayant un nombre variable de leucocytes, sans que cette association ne soit significative ($P = 0,17$). En revanche, les 9 enfants ayant une LAL T et les 12 cas de LAL B n'exprimant pas le CD10 ont tous plus de 10 ans et un nombre de leucocytes élevé ($>100\ 000/\text{mm}^3$), cette association est significative avec ($P = 0,04$).

Marqueurs aberrants : l'expression de l'antigène myéloïde CD13 et/ou CD33 représente 49,4 % des cas (52,9 % dans LAL B et 30,8 % dans LAL T) avec ($P = 0,21$).

Caryotype médullaire

Pour des raisons d'inaccessibilité, le caryotype a été réalisé chez un seul enfant et n'a pas révélé d'anomalies chromosomiques.

Prise en charge thérapeutique

Les différentes LAL ont été classées selon le risque standard (RS) ou élevé (RE). Ainsi, toutes les LAL T ont été systématiquement classées RE tandis que 40 cas de LAL B (48,2 %) ont été classés RS et 30 cas (36,1 %) ont été classés RE ($P = 0,66$). Le traitement entrepris a été le protocole MARALL 2006 adapté selon le RS ou RE.

La corticosensibilité a été notée chez 95,2 % (79/83) des patients avec 67 cas de LAL B (95,7 %) et 12 cas de LAL T (92,3 %). Elle a été observée également dans 92,5 % (37/40) du groupe RS et dans 97,7 % (42/43) du groupe RE. Cette association n'est pas significative ($p = 0,50$). En fin d'induction, 31 cas de LAL B classés RS (31/40, 77,5 %) ont été en rémission complète. L'échec du traitement a été noté dans 5 cas (12,5 %), ceux-ci ont

été switchés vers le protocole RE avec obtention d'une rémission complète chez tous les patients. L'abandon du traitement a été noté dans un cas (2,5 %) avec le décès de 3 patients (7,5 %). La rechute a été objectivée chez 7 patients (7/40, 17,5 %). Ces derniers ont bénéficié du protocole réservé aux LAL RE. Seulement 3 patients ont répondu au traitement (3/7, 42,8 %), les 4 autres patients sont décédés suite aux complications du traitement. Parmi les 43 cas de LAL classés RE (30 cas de LAL B et 13 de LAL T), 30 cas sont en rémission complète (70 %) dont 22 LAL B (51,2 %) et 8 LAL T (18,6 %). Nous avons noté l'échec du traitement dans 2 cas de LAL T (4,6 %) en fin d'induction, la rémission complète a été notée à J30 de consolidation. L'abandon du traitement a été noté dans 1 cas de LAL B (2,3 %) et le décès dans 10 cas (23,2 %) (7/43, 16,3 % de LAL B versus 3/43, 7 % de LAL T). La rechute a été observée dans 9 cas de LAL RE (9/43, 20,9 %) avec 4 cas de LAL T (9,3 %) et 5 cas de LAL B (11,6 %). La deuxième rémission complète a été obtenue chez seulement un patient atteint de LAL B qui a rechuté (1/5, 20 %). Sept cas de décès ont été notés (7/9, 77,8 %) dont 4 cas de LAL T et 3 cas de LAL B, un seul patient a abandonné le traitement.

Évolution

L'évolution a été marquée chez l'ensemble des patients par une première rémission complète 81,9 % des LAL traitées (76,9 % des LAL T versus 82,8 % des LAL B). Le taux de rechute pour l'ensemble des patients en rémission complète est de 23,5 % (16/68 RC). Il est de 20,7 % chez les patients atteints de LAL B (12/58 RC) et de 40 % chez ceux atteints de LAL T (4/10 RC), sans signification sur le plan statistique ($p = 0,55$). Le taux de décès est de 28,9 % (24/83), (7/13, 53,8 % parmi les LAL T versus 17/70, 24,3 % des LAL B) avec une association non significative ($P = 0,66$) (tableau 2).

Discussion

La leucémie est le cancer pédiatrique le plus fréquent. Il existe deux principaux types : les LAL et les LAM [6]. Dans notre étude, les LAL représentent 80 % des leucémies aiguës colligées au sein de l'unité d'hématologie pédiatrique du CHU Hassan II de Fès. Ces résultats confirment ceux d'autres auteurs qui ont montré que le même pourcentage chez les enfants âgés de 0-14 ans dans les pays d'Europe occidentale et orientale [7, 8]. Notre échantillon est constitué de 83 patients ayant une LAL. La LAL B représente plus de 80 % de l'ensemble des LAL dans de nombreuses études ce qui concorde avec nos résultats (84,3 %) [9-11]. La moyenne d'âge au diagnostic des patients de notre série est de $6,3 \pm 4,2$ ans.

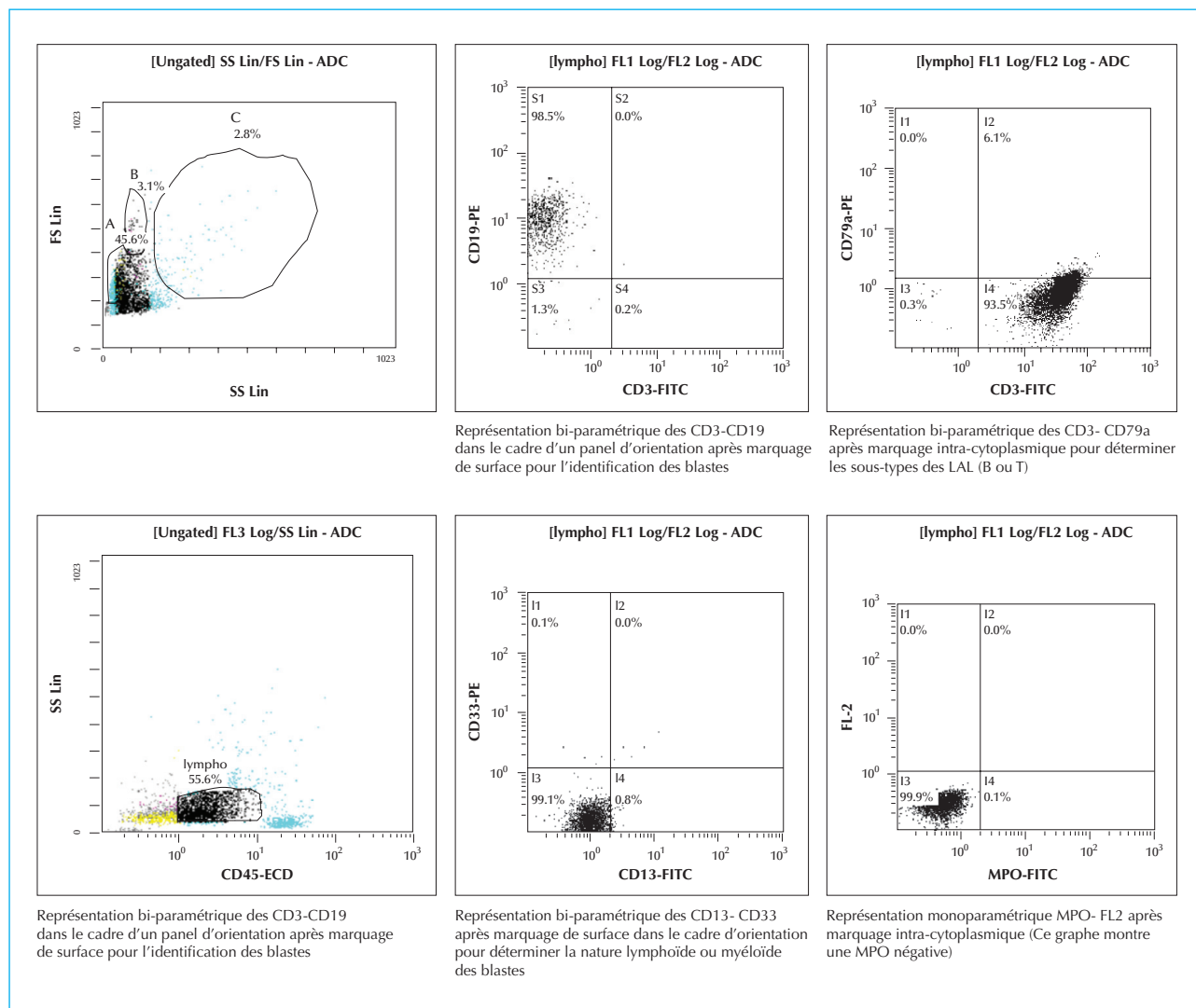


Figure 3. Cytogrammes de détection des blastes par cytométrie en flux et leur assignement aux différentes lignées lymphoblastiques (Coll. Unité de cytométrie en flux du laboratoire d'hématologie du CHU Hassan II de Fès).

Ceci est proche de la majorité des données de la littérature [9, 10, 12]. Nos résultats montrent la prédominance des LAL T chez le sexe masculin tandis que pour la LAL B l'atteinte a été équivalente dans les deux sexes : sex-ratio H/F 1 pour LAL B *versus* 5,5 pour LAL T avec ($P = 0,02$), contrairement à l'étude casablancaise où la LAL B a été prédominante dans les deux sexes [12]. Les enfants de moins d'un an et ceux entre 1 et de moins de 10 ans et plus d'un an ont tous des LAL B avec des taux de 4,8 % et de 72,3 % respectivement ; alors que ceux âgés de plus de 10 ans ont le phénotype B et T avec un taux de 22,9 % ($P = 0,043$). Ces données sont confirmées par la plupart des auteurs [9, 12]. Dans la littérature, la leucémie aiguë survient par cas isolés, mais parfois on assiste à plusieurs

cas de leucémies dans la même famille, probablement en rapport avec un facteur familial prédisposant. On n'a pas pu recueillir les antécédents de tous les patients ce qui a constitué une limite pour notre étude.

Les symptômes de la leucémie aiguë résultent de l'infiltration de la moelle, des autres tissus et organes par des blastes dont la multiplication échappe au contrôle. Ceci est fréquemment révélé par une hypertrophie des organes hématopoïétiques : adénopathies (cervicales, inguinales, médiastinales, sous maxillaires), splénomégalie et hépatomégalie. En effet, les cellules leucémiques peuvent infiltrer divers organes, ce qui augmente leur taille et contrarie leur bon fonctionnement [9, 10]. Il a été démontré que ces manifestations sont plus communes

Tableau 2. Caractéristiques cliniques, biologiques et évolutives des LAL pédiatriques de notre étude.

Caractéristiques	LAL B n (%)	LAL T n (%)	Nombre totalN (%)	P
Nombre de patients	70	13	83	
Sex ratio H/F	1	5,5	1,24	0,02
Âge (ans)	< 1	4 (4,8 %)		0,043
	1-10	60 (72,3 %)		
	> 10	6 (7,2 %)	13 (15,7 %)	
Insuffisance médullaire	44 (62,8 %)	8 (61,5 %)	52 (62,7 %)	
Syndrome tumoral	61 (87,1 %)	13 (100 %)	74 (89,2 %)	0,55
Masse médiastinale	4 (4,8 %)	11 (13,3 %)	15 (18,1 %)	0,04
Atteinte neuroméningée	1 (1,2 %)			0,84
Hyperleucocytose	37 (52,8 %)	13 (100 %)	50 (60,2 %)	< 0,001
Blastes circulants (%)	37,1	56,1	40,1	
Blastes médullaires (%)	77,6	96,5	78,1	
Expression du CD10	58 (82,8 %)	2 (15,4 %)	60 (72,3 %)	0,17
Marqueurs myéloïdes aberrants	37 (52,9 %)	4 (30,8 %)	41 (49,4 %)	0,21
Risque standard	40 (57,1 %)		40 (48,2 %)	
Risque élevé	30 (42,8 %)	13 (100 %)	43 (51,8 %)	
Corticocensibilité	67 (95,7 %)	12 (92,3 %)	79 (95,2 %)	
Rémission complète 1	58 (82,8 %)	10 (76,9 %)	68 (81,9 %)	
Rechute	12/58 (20,7 %)	4/10 (40 %)	16/68 (23,5 %)	
Rémission complète 2	4/58 (6,9 %)		4/68 (5,9 %)	
Décès	17/70 (24,3 %)	7/13 (53,8 %)	24/83 (28,9 %)	0,66

dans les LAL que les LAM [11]. Les signes de prolifération et d'insuffisance médullaire s'associent toujours, surtout chez les enfants, à des degrés variables [12, 13]. La splénomégalie a été fréquemment notée chez les patients de notre série et a été de volume variable allant de modérée à volumineuse. En général, l'augmentation du volume du foie est parallèle à celle de la rate, elle est rencontrée dans 50 % des cas [13]. Dans notre étude, la présentation clinique associant le syndrome tumoral et l'insuffisance médullaire a été notée dans 89,2 % et 62,7 % des cas successivement, elle a été plus marquée dans les LAL B (74,7 %). La fièvre a été présente dans 54,2 % des cas et a été plus fréquente dans les LAL B (48,2 %). Toutefois cette association n'a pas été significative sur le plan statistique ($P = 0,17$). La masse médiastinale a été présente dans 11 cas de LAL T (84,6 %) et 4 cas de LAL B (5,7 %) avec ($P = 0,04$), ceci est statistiquement significatif. Les données de notre étude rejoignent celles de la

littérature concernant les caractéristiques typiques des LAL T : prédominance masculine, âge plus avancé, forte hyperleucocytose et la fréquence des masses médiastinales [14]. Des douleurs osseuses peuvent aussi être observées, évoquées le plus souvent par une localisation atypique de douleurs articulaires résistant aux traitements habituels [12, 13]. Ceci a été noté dans 6 % des cas de notre étude, 8,6 % dans une étude marocaine et 23,1 % dans une étude française [13, 15]. L'infiltration testiculaire doit être recherchée systématiquement chez tous les garçons porteurs de LA surtout la LAL. L'atteinte testiculaire initiale est rare, elle est le plus souvent une forme de rechute, dans notre série, on n'a pas noté d'infiltration des organes génitaux externes. L'atteinte neurologique n'a été présente au diagnostic que dans 1,2 % des cas, ce qui se rapproche des taux décrits dans la littérature [13, 16].

Comme indiqué classiquement par les auteurs, nous avons retrouvé chez les patients une anémie

normocytaire arégénérative avec hyperleucocytose dans la plupart des cas et une présence souvent importante de blastes circulants [13, 16]. Les anomalies de l'hémogramme dans notre étude sont principalement représentées par l'anémie (100 %), la thrombopénie (85,5 %) et l'hyperleucocytose (59,5 %). La pancytopénie a été présente chez 15,7 % des patients. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés dans la littérature [13-15]. L'intensité de la thrombopénie et le risque hémorragique sont des signes fréquents dans les leucémies [13].

L'hyperleucocytose constitue un facteur pronostique majeur. Le pronostic est plus favorable quand la leucocytose est inférieure à $100\ 000/\text{mm}^3$ [13, 14]. L'association hyperleucocytose et phénotype lymphocytaire dans notre série a été significative ($P < 0,0001$), d'ailleurs nos résultats se rapprochent de ceux de la littérature où la leucocytose varie selon le degré d'envahissement de la moelle. La présence de cellules blastiques sont d'identification difficile à l'automate et elles passent facilement inaperçues, d'où la nécessité d'effectuer le frottis sanguin. En effet, le diagnostic peut être porté sur un frottis de sang si le pourcentage est supérieur à 20 %. L'absence des cellules blastiques ne veut pas dire l'absence de leucémie aiguë, mais plutôt l'absence d'envahissement sanguin par les blastes. Le taux moyen des blastes circulants dans notre étude a été de 40,1 %, ce taux est plus élevé dans les LAL T (56,1 %). Ce chiffre est relativement élevé par rapport à celui de la littérature (31,7 %) [13-15]. Devant la présence de signes cliniques et/ou biologiques évocateurs de LA, le myélogramme est indispensable pour l'étude morphologique des cellules médullaires permettant le diagnostic et le suivi de ces hémopathies malignes. Dans notre série d'étude, la moelle a été hypercellulaire dans 77,1 % des cas, avec un taux moyen de blastes médullaires de 78,1 %. Ce taux a été élevé dans la LAL T (96,5 %). Nos résultats sont superposables à ceux des autres auteurs [14, 16].

La coloration cytochimique à la myéloperoxydase a été réalisée chez tous les patients et s'est révélée négative. L'étude immunophénotypique permet la mise en évidence de divers antigènes de différenciation membranaire ou intra-cytoplasmique en confirmant l'appartenance à une lignée. En pratique, l'expression intra-cytoplasmique de CD79a ou de la chaîne epsilon de CD3 signe son engagement à la lignée lymphoïde, elle est associée à l'expression membranaire de la molécule CD19 pour la lignée B. Les autres antigènes associés qui apparaissent ensuite sont CD22, CD24 puis CD20. Concernant la lignée T, elles expriment en premier lieu la molécule d'adhésion CD7, dans une phase précoce pouvant conduire à un retour vers la lignée myéloïde. Les antigènes CD2 et CD5 apparaissent ensuite [4, 15, 17, 18].

Dans notre étude, le phénotype B a été observé dans 70 cas (84,3 %), et le phénotype T a été noté chez 13 patients (15,7 %). Ces résultats se rapprochent plus de l'étude allemande (Ludwig : 87 % de LAL B/13 % de LAL T)

et des fréquences en Europe (France 20 % de LAL T, Angleterre 14 % de LAL T), contrairement aux autres études maghrébines dont les phénotypes T étaient plus importants (Algérie 43,2 % ; Tunisie 26 % ; et quelques études marocaines : Bellaoui 63 %, Dakka 37 %, Hmimech 30 %) [14, 19, 20]. Les données concernant l'expression des antigènes spécifiques pour chaque classe de LAL ont montré des résultats proches, comme cela a été signalé, chez les enfants dans divers pays développés et en voie de développement [14, 20, 21]. La répartition selon l'âge a montré que le phénotype B est de 77,1 % dans les LAL de l'enfant de moins de 10 ans et n'est que de 22,8 % chez les plus de 10 ans ; alors que tous les phénotypes T retrouvés ont plus de 10 ans. Les enfants âgés de moins d'un an ont tous une LAL B (4 cas : 4,8 %), cette association est statistiquement significative ($P = 0,043$). Un phénotype B a été retrouvé dans 42,1 % des cas aussi bien du sexe masculin que féminin. Une prédominance masculine du phénotype T a été observée, cette différence est statistiquement significative ($P = 0,02$). Les LAL non hyperleucocytaires ($\text{GB} \leq 10\ 000/\text{mm}^3$) sont de phénotype B dans 39,7 % des cas, alors que ce même phénotype n'a été retrouvé que dans 1,2 % des cas des formes très hyperleucocytaires ($\text{GB} \geq 100\ 000/\text{mm}^3$) ; contrairement au phénotype T dont tous les cas sont très hyperleucocytaires, ce test est statistiquement significatif ($P < 0,0001$). Ces résultats obtenus sont similaires à la plupart des études menées dans les centres des pays développés [19, 21]. Nous avons confirmé également l'étroite association entre le phénotype des lymphocytes T et l'âge avancé, le sexe masculin, la masse médiastinale et le nombre de leucocytes plus élevé [14, 22, 23]. L'expression du marqueur d'immaturité CD10, a été observée chez 58 parmi les 70 cas de LAL B (82,8 %) et chez 2 parmi les 13 cas de LAL T (15,4 %) testés pour cet antigène. La corrélation de la positivité du CD10 avec l'âge, le nombre de leucocytes et le sexe, a été analysée. Ce marqueur est présent chez les patients LAL B ayant un âge inférieur à dix ans avec un nombre de leucocytes normal ou faiblement élevé ($P = 0,17$). En revanche, les enfants de phénotype LAL B CD10 (-) sont âgés de plus de 10 ans et ont un nombre de leucocytes élevé. La positivité du CD10 est moins fréquente dans la LAL T et est associée à un nombre de leucocytes supérieur sans particularité pour le sexe. Donc l'absence de CD10 dans les cas de LAL T et LAL B est significativement ($P = 0,04$) associée à des enfants âgés de plus de 10 ans et à une leucocytose importante. Les études portant sur l'importance pronostique relative à l'expression du CD10 dans les LAL B ont montré que l'expression de ce marqueur est associée à d'autres présentations cliniques et biologiques favorables [14, 22, 24]. Dans la lignée lymphocytaire T, l'expression de CD10 est associée de manière indépendante à des formes cliniques favorables [15, 25]. Donc on déduit que l'expression de CD 10 n'a pas de rôle pronostique indépendant [25, 26].

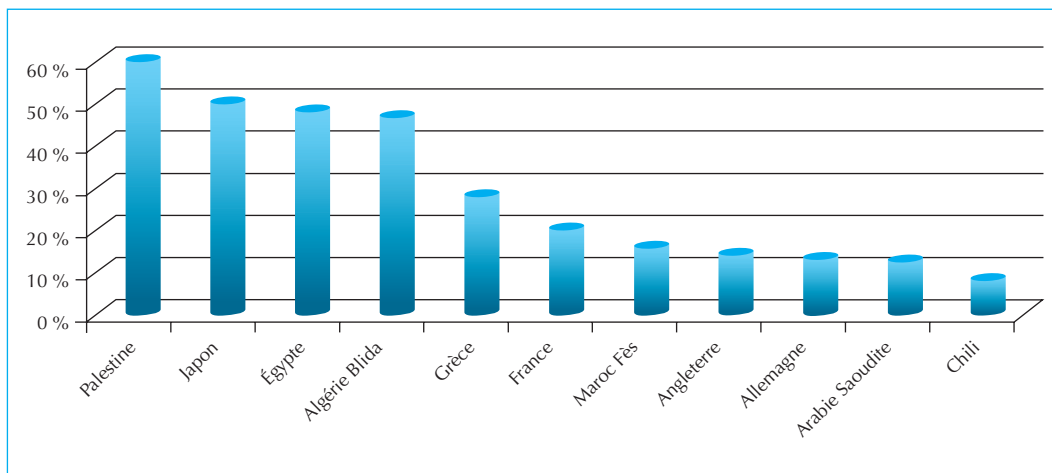


Figure 4. Fréquence des LAL T selon les études (d'après [19, 21]).

L'expression aberrante des antigènes myéloïdes sur les lymphoblastes est un phénomène bien documenté et n'a pas d'implications pronostiques ou thérapeutiques, mais peut être utilisée dans la surveillance de la maladie résiduelle minimale (MRD) [14, 15, 25, 27].

Selon la littérature médicale, un pourcentage important de LAL et de LAM peut exprimer un ou deux antigènes d'une autre lignée. Cette expression est considérée comme une infidélité de lignée. On ne doit pas les confondre avec les LA biphénotypiques [14, 15, 25]. Une expression aberrante ou asynchrone des antigènes des LAL a été considérée comme une altération génétique déroulée durant les stades précoces de différenciation lymphoïde. Dans notre série, la présence de phénotypes aberrants a été observée dans 49,4 % des cas (37 patients LAL B : 52,9 % et 4 patients LAL T : 30,8 %) avec une prédominance d'expression des marqueurs myéloïdes CD33 et CD13 *versus* 52,7 % de l'étude de Bachir *et al.* et 63,3 % de l'étude de Jmili *et al.* [17, 18]. Cependant, cette fréquence n'est pas significative ($P = 0,21$) et reste élevée par rapport à d'autres études antérieures dont les taux varient entre 6 % et 35 % [14, 15] (*figure 4*).

Dans notre étude, le protocole thérapeutique entrepris est celui de MARALL 2006. Nous avons analysé l'évolution de nos patients selon le RS ou RE et selon le phénotype B ou T. La corticosensibilité a été notée dans 95,2 % des cas (95,7 % de LAL B et 92,3 % de LAL T) et dans 92,5 % du groupe RS *versus* 97,7 % du groupe RE, sans signification statistique ($p = 0,50$). L'évolution a été marquée par une rémission complète dans 68 cas (81,9 %) des LAL traitées (76,9 % des LAL T *versus* 82,8 % des LAL B). Ces résultats se rapprochent des taux retrouvés dans l'étude de Dakka *et al.* et de Harif *et al.* avec 88 % et 82,8 % de rémission complète pour la LAL B et de 84 % et 66,6 % pour les LAL T [20, 28]. Le taux de rechute pour

l'ensemble des patients est de 23,5 % (16/68 RC). Il est de 20,7 % (12/58), chez les patients atteints de LAL B et de 40 % (4/10) chez les patients atteints de LAL T.

Le traitement de la LAL pédiatrique représente un succès de la médecine moderne avec 85 à 90 % de survie à l'heure actuelle dans les pays développés, alors que dans les années 1970, le taux de survie était d'à peine 15 % [25, 29]. L'amélioration de la survie en pédiatrie a été rendue possible en partie grâce à des traitements plus efficaces et plus spécifiques en fonction des facteurs de risque de mauvais pronostic : l'âge au moment du diagnostic de moins d'un an et de plus de dix ans, les globules blancs de plus de 50 000 GB/mm³ lors du diagnostic, une LAL à cellules T, une cytogénétique défavorable (l'hypodiploïdie, la présence du chromosome de Philadelphie ou un réarrangement du gène *m/l*) et une maladie résiduelle minimale [4, 14, 29, 30]. Les améliorations de la survie sont liées à une meilleure compréhension de la biologie moléculaire et cellulaire de la LA, à l'intensification de la chimiothérapie d'induction de la rémission et des traitements de consolidation de même qu'au développement de meilleurs traitements de soutien, notamment en termes de transfusion et en matière de prévention des infections [30-32].

Limites de l'étude

Nous avons été confrontés dans notre étude à quelques écueils ; par manque de réactifs, occasionnellement, nous n'avons pas toujours pu recueillir les marqueurs : CD1a, TdT, CD24, TCR ; et par conséquent l'établissement de sous-classification des différentes LAL B et T n'était pas possible.

D'un autre côté, l'absence de caryotype dans la plupart des dossiers a rendu la comparaison de l'évolution des différents phénotypes de LAL et leur profil cytogénétique difficile.

Conclusion

La cytométrie en flux est devenue un outil incontournable du diagnostic des LAL, intégré aux examens de routine de ces maladies. La grande sophistication de cette technique pléomorphe permettant l'identification de multiples caractéristiques a été progressivement abandonnée au profit de panels simplifiés au quotidien.

L'assignement de lignée est en effet le critère principal nécessaire au clinicien pour guider les choix thérapeutiques. Il est également utile de définir au diagnostic les caractéristiques immunophénotypiques qui seront mises à profit pour rechercher la maladie résiduelle ou caractériser la rechute comme issue du même clone ou d'une autre population de blastes. Enfin, les études précoces de sensibilité au traitement semblent s'affirmer comme les meilleurs marqueurs pronostiques et peuvent bénéficier de l'approche précise apportée par la cytométrie en flux.

Nous pouvons tirer les conclusions suivantes de notre étude :

- La répartition des LAL chez les enfants de notre centre est similaire à celle des autres enfants marocains et la distribution générale dans les pays développés.
- Le profil phénotypique des patients de notre étude est proche de ceux rapportés dans la littérature pour les LAL B et des centres des pays développés pour les LAL T.
- Le phénotype T est prédominant dans le sexe masculin, il s'associe sur le plan clinique le plus souvent à une masse médiastinale, et il est caractérisé par des formes très hyperleucocytaires.
- Nos données confirment que l'immunophénotypage des LAL fournit une base solide pour une classification biologiquement orientée et fiable. Toutefois, durant notre étude, on a été limité par un panel restreint ce qui nous a empêché d'établir une sous-classification des LAL B et LAL T et d'étudier les différents stades de maturation.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec l'article.

Références

1. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, *et al.* The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: Rationale and important changes. *Blood* 2009; 114(5): 937-45.
2. Imbert M, Oriane WB. Place de la biologie moléculaire pour le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. *Revue Francophone des Laboratoires* 2015; 471 : 29-33.
3. Béné MC, Nebe T, Bettelheim P, *et al.* Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders : a consensus proposal of the European leukemia network package 10. *Leukemia* 2011 ; 25(4) : 567-74.
4. Béné MC, Lacombe F. Place de la cytométrie en flux dans le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. *Revue Francophone des Laboratoires* 2015 ; 471 : 35-41.
5. Michel G. Leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant et l'adolescent : clinique et traitement. Éditions Scientifiques et médicales Elsevier SAS, 4-080-D-10, 2008.
6. Linabery AM, Ross JA. Trends in childhood cancer incidence in the US (1992-2004). *Cancer* 2008 ; 112(2) : 416-32.
7. Coebergh JW, Reedijk AM, de Vries E, *et al.* Leukaemia incidence and survival in children and adolescents in Europe during 1978-1997: Report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *Eur J Cancer* 2006 ; 42(13) : 2019-36.
8. Parkin DM, Stiller CA, Draper GJ, Bieber CA. The international incidence of childhood. *Cancer* 1988 ; 42(4) : 511-20.
9. Greaves MF, Colman SM, Beard ME, *et al.* Geographical distribution of acute lymphoblastic leukaemia subtypes : second report of the collaborative group study. *Leukemia* 1993 ; 7(1) : 27-34.
10. Stiller C (Ed.). *Childhood cancer in Britain: Incidence, survival, mortality.* Oxford, Oxford University Press. 2007.
11. Maloney KW, Giller R, Hunger SP. Recent advances in the understanding and treatment of pediatric leukemias. *Adv Pediatr* 2012 ; 59(1) : 329-58.
12. Hmimch A, Bachir A, Cherkaoui S, *et al.* Immunophénotypage des leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant Hématologie, Oncologie pédiatrique, CHU Ibn Rochd Hôpital Casablanca, Maroc. Leucémies aiguës : Aspects biologiques. *Hématologie* 2011 ; 17(Suppl. 1) : 103-22.
13. Khattar M. Profil épidémiologique et cytologique des Leucémies aiguës chez l'enfant : Etude rétrospective (juin 2012- mai 2014) effectuée au laboratoire central d'hématologie de l'hôpital ibn sina rabat. Thèse de doctorat en pharmacie 2014.
14. Bachir F, Bennani S, Lahjouji A. *et al.* Characterization of Acute Lymphoblastic Leukemia Subtypes in Moroccan Children. *Int J Pediatr* 2009 : 674801. Epub 2009 Jul 19.
15. Jmili NB, Souguir S, Yacoub S, *et al.* Etude du profil antigénique des blastes au cours des leucémies aiguës lymphoblastiques : analyse de 152 cas par cytométrie en flux. *Ann Biol Clin* 2009 ; 67(5) : 543-51.
16. Doumbia M, Uwingabiye J, Bissan A, Rachid R, Benkirane S, Masrar A. Aspects épidémiologiques, cliniques, cytologiques et immunophénotypiques des leucémies aiguës chez les enfants : expérience du laboratoire d'hématologie du Centre Hospitalier Universitaire IBN Sina. *Pan African Medical Journal* 2016 ; 23 : 258.
17. Pui CH, *et al.* Pediatric acute lymphoblastic leukemia: Where are we going and how do we get there? *Blood* 2012 ; 120 : 1165-74.
18. Dakka N, Bellaoui H, Khattab M, *et al.* Immunologic profile and outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) in Morocco. *J Pediatr Hematol Oncol* 2007 ; 29(8) : 574-80.

-
19. Roberts KG, Mullighan CG. Genomics in acute lymphoblastic leukaemia: Insights and treatment implications *Nat. Rev Clin Oncol* 2015 ; 12(6) : 344-57.
20. Dakka N. Profil immunologique des leucémies aiguës lymphoblastiques chez les enfants au Maroc : Corrélation avec les aspects biologiques, cliniques et pronostiques. Thèse 2009. Faculté des Sciences Agdal, Rabat - Doctorat d'Etat.
21. Ludwig WD, Reiter A, Löffler H, *et al.* Features of Childhood and Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL): Experience of the German Multicentre Trials ALL-BFM and GMALL. *Leuk Lymphoma* 1994 ; 13(1) : 71-6.
22. Bellaoui H, Khattab M, EL Hansali M, *et al.* Etude du profil immunologique des leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant au Maroc. Intérêt de l'étude de la coexpression du CD34 et CD10. *Biologie & Santé* 2003 ; 3(1) : 196-201.
23. Khalidi HS, Chang KL, Medeiros LJ, *et al.* Acute lymphoblastic leukemia : survey of immunophenotype. FrenchAmerican-British classification, frequency of myeloid antigen expression, and karyotypic abnormalities in 210 pediatric and adult cases. *Am J Clin Pathol* 1999 ; 111(4) : 467-76.
24. Bouallegue. Etude cytogénétique des LAL de novo de l'enfant : à propos de 30 cas. Laboratoire d'hématologie biologique, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie. *Hématologie* 2011 ; 17(Suppl. 1) : 103-22.
25. Naeim F, Rao PN, Grody WW. *Hematopathology: Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics, and Molecular Approaches 1st Edition.* Academic Press, 2008.
26. Parkin DM, Stiller CA, Draper GJ, Bieber CA. The international incidence of childhood. *Cancer* 1988 ; 42(4) : 511-20.
27. Coebergh JW, Reedijk AM, de Vries E, *et al.* Leukaemia incidence and survival in children and adolescents in Europe during 1978-1997 : report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *Eur J Cancer* 2006 ; 42(13) : 2019-36.
28. Harif M, Benhaddou M, Madani M, *et al.* Profil immunophénotypique des leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant : Etude de 67 cas au Maroc. *Ann Pédiatr* 1997 ; 44(6) : 391-5.
29. Doyen N, Lawrence MD, Diamond W, *et al.* Flow Cytometry in Hematopathology : A Visual Approach to Data Analysis and Interpretation. British Committee for Standards in Haematology. Revised guidelines for immunophenotyping of acute leukemia and chronic lymphoproliferative disorders. *Clin Lab Haematol* 2002 ; 24 : 1-13.
30. Imbert M, Wagner-Ballon O. Place du biologiste dans la prise en charge des leucémies aiguës : de l'hémogramme à la classification OMS. *Revue Francophone des Laboratoires* 2015 ; 471 : 83-90.
31. Plantaz Pr. Leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant : Diagnostique, pronostic et traitements. Journée DES pédiatrie Clermont Ferrand 14-5 mars 2008.
32. Brown CM, Larsen SR, Iland HJ, *et al.* Leukaemias into the 21st century: Part 1: The acute leukaemias. *Intern Med J* 2012 ; 42(11) : 1179-86.