

Aspects cytologiques des leucémies aiguës : à propos de 193 cas colligés dans la région centrale de la Tunisie

N. Braham Jmili,¹ A. Ben Abdelaziz,² M. Nagara,¹ T. Mahjoub,¹ H. Ghannem² et M. Kortas¹

الملاحح السيتولوجية لايبضااض الدم الحاد في المنطقة الوسطى من تونس

براهم جميلي ناجية، بن عبد العزيز أحمد، نقارة محمد، محجوب توهامي، غنام حسن، قرطاس منذر

الخلاصة: نظراً لعدم توافر سجل سكاني في تونس، فإن المعلومات حول ابيضاض الدم الحاد نادرة. وقد درس الباحثون الملاحح السيتولوجية والوبائية (الإبيدميولوجية) في 193 من المرضى المصابين بابيضاض الدم الحاد. وأجرى الباحثون دراسة للصبغة الدموية ولطخات من الدم المحيطي ومن النقي لكل مريض. وقد تراوحت أعمار المرضى بين 10 شهور و83 سنة، مع رجحان لدى الذكور (بنسبة 1.27). أما بالنسبة لنمط ابيضاض الدم فإن 40.4% كانوا من المصابين بابيضاض دم حاد بالأرومات اللمفاوية و51.8% كانوا من المصابين بابيضاض دم حاد بالأرومات النقية، و7.8% كانوا من المصابين بابيضاض الدم غير المصنّف. وكان التشخيص قد وضع قبل أقل من عشر سنوات لدى 31.6% من الحالات، وكان نمط الابيضاض لدى 72% منهم من الأرومات اللمفاوية. ولوحظ وجود فقر الدم (هيموغلوبين أقل من 11 غرام/ديسي لتر) في 85% من الحالات، ووجود نقص في الصفيحات (أقل من مئة ألف صفيحة في كل ميلي متر مكعب) لدى 80.5% من الحالات. كما لوحظ فرط الكريات البيض (تعداد الكريات البيض يزيد عن مئة ألف كرية بيضاء في كل ميلي متر مكعب) في 14.5% من الحالات مع وجود الأرومات في الدم المحيطي في 92% من الحالات.

RÉSUMÉ En Tunisie, peu de données concernant les leucémies aiguës sont disponibles en l'absence d'un registre de population. Nous avons étudié les caractéristiques épidémiologiques et cytologiques de 193 patients atteints de leucémie aiguë. Des hémogrammes ont été réalisés et des frottis de sang et de moelle ont été examinés pour chaque patient. L'âge des patients variait de 10 mois à 83 ans avec une prédominance masculine (rapport : 1,27). Concernant le type de leucémie aiguë, 40,4 % avaient une leucémie aiguë lymphoblastique, 51,8 % une leucémie aiguë myéloblastique et 7,8 % étaient des cas difficiles à classer. Dans notre série, 31,6 % des cas de leucémie aiguë s'observaient à un âge de moins de 10 ans et 72 % de ces cas étaient de type lymphoblastique. Une anémie (hémoglobine <11 g/dL) a été observée dans 88,5 % des cas, une thrombopénie (plaquettes <100 000/mm³) dans 80,5 %, une hyperleucocytose > 100 000/mm³ dans 14,5 % avec une blastose sanguine dans 92 % des cas.

Cytological features of acute leukaemia in the central region of Tunisia

ABSTRACT In Tunisia, because of an absence of population registry, data on acute leukaemia are scarce. We studied the epidemiological and cytological characteristic of 193 patients with acute leukaemia. Haemograms were carried out and slides for peripheral blood and bone marrow were prepared for each patient. The age range of the patients was 10 months to 83 years with a predominance of males (ratio: 1.27). As regards type of leukaemia, 40.4% had acute lymphoblastic leukaemia, 51.8% had acute myeloblastic leukemia and 7.8% were unclassified. Diagnosis was made at less than 10 years in 31.6% of cases and 72% of these were the lymphoblastic type. Anaemia (Hb < 11 g/dL) was found in 85% of cases, thrombocytopenia (platelets < 100 000/mm³) in 80.5% and hyperleukocytosis (WBC > 100 000/mm³) in 14.5% of cases with blasts in peripheral blood in 92% of cases.

¹Laboratoire d'Hématologie; ²Service d'Épidémiologie, C.H.U. Farhat Hached, Sousse (Tunisie).

Reçu : 13/08/03 ; accepté : 22/01/04

Introduction

Les leucémies aiguës (LA) constituent un groupe hétérogène d'affections hématologiques clonales caractérisées par une prolifération maligne dans la moelle osseuse d'un clone cellulaire anormal du tissu hématopoïétique et bloqué à un stade précis de différenciation avec expansion de cellules immatures (blastes) qui peuvent être présentes dans le sang périphérique [1,2].

En Europe et aux États-Unis, les LA représentent 80 % des leucémies et environ 35 % des cancers de l'enfant [2,3]. En Tunisie, les leucémies représentent la première hémopathie maligne diagnostiquée et traitée [4].

Dès les premières descriptions, la sous-classification des LA en une série de variétés distinctes s'est imposée du simple fait de leur diversité morphologique. Ces subdivisions ont montré par la suite un intérêt pronostique du fait de leur sensibilité différente aux chimiothérapies [1,5]. Malgré le développement de nouvelles technologies pour la caractérisation des différentes entités de leucémies aiguës dans les applications cliniques [6-8], on continue à utiliser dans beaucoup de pays en développement les recommandations anciennes de la classification FAB (*French-American-British*), mise au point en 1976 et basée sur des caractéristiques morphologiques et cytochimiques [9].

En Tunisie, en l'absence d'un registre de population, les laboratoires d'anatomopathologie et les dossiers hospitaliers constituent les principales sources d'information sur l'épidémiologie des cancers [10]. Toutefois, peu de données nationales concernant le profil épidémiologique et cytologique des leucémies aiguës sont disponibles.

L'objectif de ce travail est de décrire, à travers une série de 193 cas, les caractéristiques épidémiologiques et cytologiques du sang périphérique et de la moelle chez les patients atteints de leucémie aiguë dans la région du centre de la Tunisie.

Méthodes

Il s'agit d'une étude descriptive réalisée au Laboratoire d'Hématologie de l'Hôpital Farhat Hached de Sousse. Cette étude a concerné tous les patients chez lesquels une leucémie aiguë a été diagnostiquée entre le 1^{er} janvier 1998 et le 30 juin 2002.

Les échantillons de sang ont été prélevés par ponction veineuse sur des tubes avec EDTA K3 (acide éthylène diamine tétracétique tripotassique). La ponction de la moelle osseuse a été pratiquée chez l'adulte au sternum et en épine iliaque postérieure chez l'enfant.

L'hémogramme a été déterminé sur « Coulter MAXM ». Les frottis de sang et de moelle ont été colorés au MGG (*May-Grünwald-Giemsa*) par la méthode automatique (HEMATEK-AMES). Pour chaque patient, trois lectures indépendantes des frottis de sang et de moelle ont été assurées et validées par des cytologistes.

Le diagnostic de LA a été porté dès qu'il y avait plus de 30 % de blastes dans la moelle osseuse. L'examen de sang a permis d'établir la formule leucocytaire sanguine et a contribué à la classification des LA selon le groupe FAB. La séparation entre les sous-groupes des LA a été basée sur l'appréciation du pourcentage des blastes dans la moelle, le type de blastes et le compte absolu des monocytes sanguins [11].

La sous-classification morphologique des leucémies aiguës lymphoblastiques

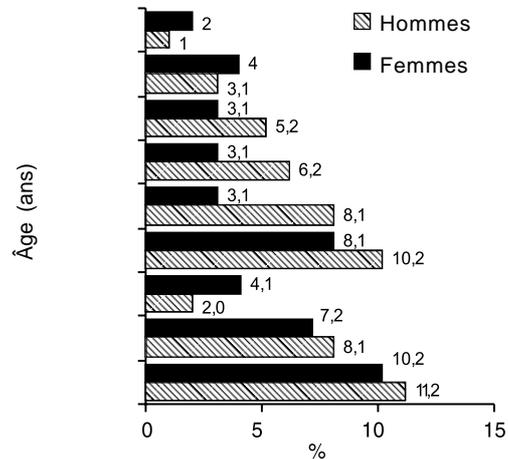
a été basée sur un système de score utilisant les caractères cellulaires suivants : le rapport nucléocytoplasmique, la présence de nucléoles, l'irrégularité du profil nucléaire et la présence de grandes cellules [12]. La recherche de l'activité myéloperoxydase par la technique à la pyronine a été la réaction cytochimique appliquée sur un frottis de moelle dans le cas où l'aspect myéloïde n'était pas évident et elle a été considérée négative si on notait une proportion de moins de 3 % de blastes peroxydase positive.

Les données répertoriées ont été ensuite informatisées sur le logiciel de traitement statistique (SPSS.10) au Service d'Epidémiologie du C.H.U. Farhat Hached de Sousse. Les statistiques descriptives (moyennes, fréquences) ont été utilisées pour résumer les données.

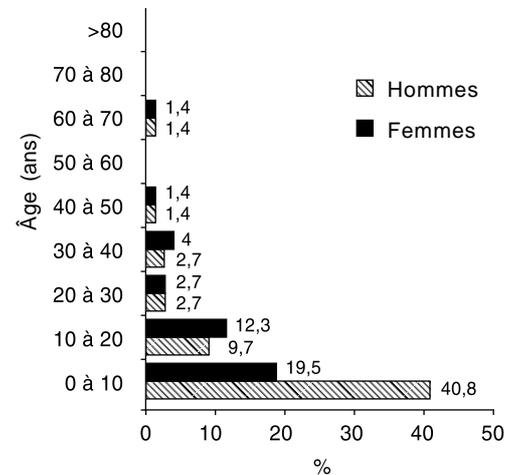
Résultats

La répartition de 193 cas de LA selon les mois a montré une variation saisonnière avec deux pics : printemps et automne. L'âge des patients variait de 10 mois à 83 ans. Le rapport était de 1,27 en faveur du sexe masculin. Les leucémies aiguës touchaient tous les âges avec une fréquence plus élevée chez l'enfant (Figure 1).

L'examen cytologique des frottis de sang et de moelle ont permis d'affirmer le diagnostic des 193 cas de LA et d'en préciser le type cellulaire (Tableau 1) : 40,4 % des cas étudiés étaient de type lymphoblastique dont 56,4 % étaient de type L1 et 32,1 % étaient de type L2. La réaction de myéloperoxydase était indispensable dans 36 % des cas, vu l'absence de signe de différenciation cytologique, et il était impossible de classer 7,8 % des frottis examinés. Les leucémies aiguës de type myéloïde



A : LAL (Leucémie aiguë lymphoblastique)



B : LAM (Leucémie aiguë myéloïde)

Figure 1 Répartition par âge et par sexe de 193 cas de leucémie aiguë colligés dans la région centrale de la Tunisie

Tableau 1 Classification cytologique des 193 cas de leucémie aiguë colligés dans la région centrale de la Tunisie

Cas	Nbre	%
LAM ¹	100	51,8
LAM1	12	12,0
LAM2	17	17,0
LAM3	15	15,0
LAM4	16	16,0
LAM5	15	15,0
LAM6	7	7,0
LAM7	1	1,0
LAMDAC ²	17	17
LAL ³	78	40,4
LAL1	44	56,4
LAL2	25	32,1
LAL3	4	5,1
LALDAC ⁴	5	6,4
LADAC ⁵	15	7,8
Total	193	100

¹LAM : leucémie aiguë myéloïde.

²LAMDAC : leucémie aiguë myéloïde difficile à classer.

³LAL : leucémie aiguë lymphoïde.

⁴LALDAC : leucémie aiguë lymphoïde difficile à classer.

⁵LADAC : leucémie aiguë difficile à classer.

représentaient 51,8 % des cas avec une distribution homogène des différents sous-types 1, 2, 3, 4 et 5. Les LAM 6 et 7 étaient plus rares. Le sous-typage était impossible dans 17 % des LAM et 6,6 % des LAL.

L'étude de la numération et formule sanguine de ces 193 patients atteints de LA a conclu aux différentes anomalies illustrées par la figure 2. Elle a montré une blastose sanguine dans 92 % des cas. L'anémie a été observée dans 88,5 % des cas avec une thrombopénie dans 80,5 % des cas.

Discussion

Depuis une vingtaine d'années, la classification des LA fait appel aux recommandations du groupe FAB. L'intérêt longtemps porté à cette classification tient à sa relative simplicité basée sur une description morphologique simplifiée, après coloration des frottis de sang et de moelle par la méthode de *May-Grünwald-Giemsa* complétée par des examens cytochimiques [11], accessible à tous les laboratoires et tenant compte des anomalies cytologiques du sang et de la moelle. Cette approche reste toujours la base du diagnostic des LA en application clinique malgré ses limites.

En effet, dans notre étude, le plus souvent le diagnostic des LA est évident. Cependant, des difficultés de classement se sont posées en cas de frottis pauvres ou mal étalés. La ponction est difficile à réaliser en cas de myélofibrose pouvant gêner l'aspiration de moelle. D'où la nécessité de caractériser la population blastique par d'autres marqueurs immunologiques et cytogénétiques pour affirmer ou même modifier le diagnostic et aussi mieux cibler les indications thérapeutiques initiées [2]. C'est la confrontation de l'examen des frottis sanguins et l'étude des molécules membranaires de surface qui permettra un diagnostic dans les cas difficiles [13,14]. En effet, l'immunophénotypage est indispensable pour confirmer le diagnostic des LAL, rechercher une LA biphénotypique et éliminer une LAM indifférenciée (LAM0) [15]. L'intérêt du caryotype dans les leucémies aiguës est bien établi. Les anomalies décelées représentent l'un des critères de classement d'une LA [6,16]. De même, la biologie moléculaire a fait aujourd'hui son entrée dans l'évaluation des LA, notamment pour la mise en évidence des translocations cryptiques et l'analyse des échecs du caryotype et surtout son intérêt majeur

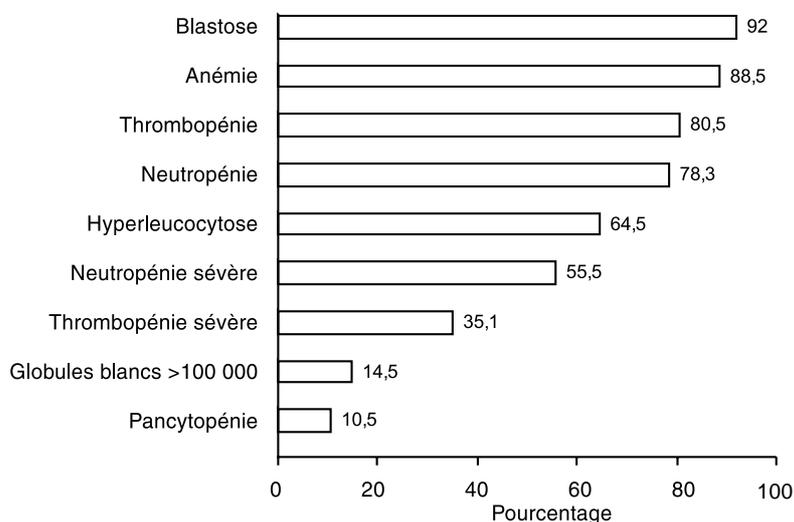


Figure 2 Anomalies de l'hémogramme chez 193 cas de leucémie aiguë colligés dans la région centrale de la Tunisie.

Anémie (hémoglobine < 11 g/dL), thrombopénie (plaquettes < 100 000/mm³), neutropénie (polynucléaires neutrophiles < 1500/mm³) hyperleucocytose (globules blancs > 10 000/mm³), neutropénie sévère (polynucléaires neutrophiles < 1000/mm³), thrombopénie sévère (plaquettes < 20 000/mm³), pancytopénie (anémie, thrombopénie et leucopénie : globules blancs < 4000/mm³)

pour l'évaluation de la maladie résiduelle [7]. Ainsi, la classification des LA proposée par l'OMS intègre les données morphologiques, immunophénotypiques, génétiques et cliniques dans le but de définir des entités biologiquement homogènes et cliniquement pertinentes [17]. Le classement des leucémies aiguës est basé sur l'appartenance des blastes à une lignée lymphoïde ou myéloïde.

Les leucémies aiguës lymphoïdes (LAL) sont divisées en LAL à précurseurs B et LAL à précurseurs T.

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) comprennent 4 grandes catégories [8,17] :

- LAM avec anomalies génétiques récurrentes ;
- LAM avec signes de dysplasie touchant plusieurs lignées ;

- LAM secondaires à des thérapeutiques ;
- LAM autres, n'entrant pas dans les catégories précédentes.

Toutefois, il faut noter que ces nouvelles techniques sont longues à mettre en œuvre et nécessitent une certaine pratique, ce qui les réserve à des laboratoires spécialisés, et devant l'extrême urgence de la maladie, l'examen cytologique du sang et de la moelle reste un moyen rapide qui permet, dans l'heure qui suit le prélèvement, le diagnostic de la majorité des LA.

Les deux variétés L1 et L2 des LAL ne sont pas réellement distinctes par une catégorie particulière de cellules blastiques mais plutôt par des proportions différentes d'éléments cellulaires qu'elles peuvent

avoir en commun [4]. La valeur pronostique des formes L2 par rapport aux formes L1 n'a jamais pu être mise en évidence [11].

Cinq pour cent (5 %) des LAL étaient de type L3. Cette forme, distinguée par un critère cytoplasmique très particulier des cellules de Burkitt, doit être considérée à part des LAL classiques. Le type L3 est peu fréquent en France, tant chez l'adulte (9,7 %) que chez l'enfant (4,6 %) [18]. Les LAL de type Burkitt étaient classiquement de pronostic très péjoratif mais l'instauration de protocoles de chimiothérapie intensive et brève a entraîné un changement de pronostic et une amélioration des chances de guérison.

La présence de granulations dans les blastes fait suspecter une origine myéloblastique. Le diagnostic peut être porté avec certitude sur un très faible pourcentage de blastes s'ils renferment un ou des corps d'Auer, témoignant de leur caractère malin [15]. Les caractères cytologiques des LAM ont une valeur pronostique discutée ; des études ont montré que le taux de rémission complète a été plus élevé dans les catégories M1, M2 et M3 que dans les formes M4, M5 et M6, mais ces constatations n'ont pas été partagées par d'autres auteurs [19].

La littérature médicale rapporte que les LA de l'enfant, bien que rares en soi, représentent la première cause de cancer pédiatrique (30 %) et surviennent surtout avant 9 ans. En Europe et aux États-Unis, les LAL représentent 75 % à 80 % des leucémies et environ 20 % des cancers de l'enfant de moins de 15 ans [3]. En effet, les LAL touchent de préférence les âges extrêmes avec une distribution bimodale de l'incidence et de la mortalité (<15 ans et > 80 ans). Chez l'adulte, elles sont au contraire quatre fois plus rares que les LAM (environ 5 % des leucémies) [18].

Dans notre série, 31,6 % des cas de LA s'observent à un âge de moins de 10 ans, et 72 % des cas sont de type lymphoblastique. Cependant, notre série comportait seulement 2 cas de LAL chez les patients âgés de plus de 50 ans et nous pensons que cette fréquence pourrait être sous-estimée et que la pathologie serait sous-diagnostiquée dans cette tranche d'âge. En revanche, nos résultats corroborent ce qui est rapporté dans les différentes séries concernant la fréquence des LAM chez l'adulte. Les LAM étaient quatre fois plus importantes que les LAL dans la tranche 20 à 60 ans, puis la fréquence restait stable jusqu'à un âge supérieur à 80 ans.

L'âge est le facteur de pronostic le plus important pour la réussite du traitement d'induction des LAM [20]. Concernant les LAL, chez l'adulte, le risque de rechute ou d'échec primaire s'accroît au-dessus de 35 ans ; la maladie est souvent hyperleucocytaire avec une atteinte méningée initiale, et le traitement est plus toxique à cet âge. Chez l'enfant plus grand, le pronostic se dégrade à partir de 10-11 ans pour rejoindre celui de l'adulte à partir de 15 ans. Le pronostic est très défavorable si l'âge est inférieur à 12 mois, et surtout inférieur à 6 mois [2].

Le genre humain a une moindre valeur pronostique. Dans notre série, le rapport a été de 1,27 en faveur du sexe masculin avec une nette prédominance du sexe masculin à l'âge adulte. La prédominance masculine a été manifeste pour les leucémies aiguës de type lymphoblastique (Figure 1). Le pronostic est plus défavorable pour le sexe masculin dans ce cas (rechute testiculaire dans 5 % des cas). Contrairement aux LAL, le sexe ne semble pas être un facteur de pronostic dans les LAM.

Les leucémies aiguës associent à des degrés variables des signes de prolifération et d'insuffisance médullaire. L'étude de

l'hémogramme a montré des cellules blastiques dans 92 % des cas mais cela n'a pas été suffisant pour poser le diagnostic [2]. La détermination de la numération et formule sanguine a permis par ailleurs d'apprécier :

- le degré de l'anémie : un chiffre normal d'hémoglobine (11,5 % des cas) traduit souvent une forme rapidement évolutive et de plus mauvais pronostic ;
- l'intensité de la thrombopénie et le risque hémorragique : on notait une thrombopénie sévère avec un risque d'hémorragie cérébrale dans 35,1 % des cas ;
- la leucocytose qui constitue un facteur pronostique majeur. Le pronostic est plus favorable quand la leucocytose est inférieure à 100 000/mm³ [2]. Dans notre série, les LA se présentaient fréquemment sous une forme hyperleucocytaire (64,5 % des cas). Le chiffre de globules blancs a été supérieur à 100 000/mm³ dans 14,5 % des cas avec une pancytopenie uniquement dans 10,5 % des 193 cas.
- Le degré de la neutropénie absolue prédit le risque infectieux. Nos résultats

ont montré une neutropénie dans 78,3 % des cas ; elle a été sévère dans 55,5 % des cas. Des résultats similaires ont été déjà décrits et ont trouvé notamment une leucocytose supérieure à 100 000/mm³ dans 5 à 10 % [2].

Conclusion

Un hémogramme complet avec une lecture minutieuse des frottis de sang et de moelle complétée par des réactions cytochimiques permettent encore le classement de la plupart des LA. Cependant l'étude d'autres marqueurs cytogénétiques, immunologiques et moléculaires est devenue nécessaire pour confirmer le diagnostic des LAL et pour identifier des LA d'aspect atypique. La classification OMS nouvellement proposée utilise une combinaison de l'ensemble de ces approches, prenant en considération leur capacité à définir des entités biologiques qui, avec l'âge et les anomalies de l'hémogramme, permettent de définir le schéma thérapeutique et représentent les éléments utiles au pronostic [9,17].

Références

1. Hollard D. Les leucémies aiguës. EMC (Paris-France). Sang, 1983, 13015 A²⁰ : 5-1983, 5-13.
2. Hunault-Berger M, Pellier I, Norbert I. Leucémie aiguë lymphoblastique (adulte et enfant). *La Revue du Praticien*, 1999, 49:441-5.
3. Chan KW. Acute myeloid leukaemia. Acute lymphoblastic leukaemia. *Current problems in pediatric and adolescent health care*, 2002, 32(2):40-9.
4. Laatiri M, Ennabli S. Lymphomes non hodgkiniens. In : Maalej M, ed. *Cancé-
rologie pratique*. Tunis, Centre de Publication universitaire, 1999: 447-55
5. Flandrin G et al. Classification des leucémies aiguës. EMC (Paris-France), Sang, 13015 A¹⁰, 7-1988, 5-10.
6. Charrin C, Mugneret F. Cytogénétique des leucémies aiguës de novo. *La Revue du Praticien*, 1996, 46:37-41.
7. Gabert J. Utilité de la biologie moléculaire dans le diagnostic des leucémies aiguës et l'évaluation de la maladie résiduelle. *La Revue du Praticien*, 1996, 46:42-7.

8. Paredes-Aguilera R et al. Flowcyto-metric analysis of cell-surface and intra cellular antigens in the diagnosis of acute leukaemia. *American journal of hematology*, 2001, 68(2):69-74.
9. Flandrin G. La nouvelle classification OMS des hémopathies malignes. Hémopathies myéloïdes. *Hématologie*, 2001, 7(2):136-41.
10. Ben abdallah M. Epidémiologie des cancers en Tunisie. In : Maalej M, ed. *Cancérologie pratique*. Tunis, Centre de Publication universitaire, 1999:33-7.
11. Imbert M, Jouault H, Tulliez M. Cytologie des leucémies aiguës. *La Revue du Praticien*, 1996, 46:23-9.
12. Bennet JM et al. The morphological classification of acute lymphoblastic leukaemia: concordance among observers and clinical correlation. *British journal of haematology*, 1981, 47(4):553-61.
13. Feki S et al. Contribution of flow cytometry to acute leukaemia classification in Tunisia. *Disease markers*, 2000, 16: 131-3.
14. Cabrera E et al. Acute myeloid leukaemia: clinical and laboratory characteristics. *Revista medica de Chile*, 1999, 125(4):433-7.
15. Imbert M. Place du biologiste dans le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. *Revue Française des Laboratoires*, 2002, 344:67-70.
16. Bennett JM et al. Hypergranular promyelocytic leukaemia: correlation between morphology and chromosomal translocations including t(15;17) and t(11;17). *Leukaemia*, 2000, 14(7):1197-200.
17. Valensi F. Classification des leucémies aiguës : nouvelles propositions de l'OMS. *Revue Française des Laboratoires*, 2002, 344:19-24.
18. Roy P, Coleman MP. Epidémiologie des leucémies aiguës lymphoïdes. *Revue d'épidémiologie et de santé publique*, 1992, 40:323-34.
19. Reiffers J, Perel Y, David B. Traitement des leucémies aiguës. In : Breton-Gorius J et al., eds. *L'hématologie de Bernard Dreyfus*. Paris, Flammarion, 1992 :805-25.
20. Xavier T, Belharbi A. Leucémies aiguës myéloïdes du sujet âgé : Mise au point. *Bulletin du cancer*, 2002, 2(2):143-54.