

Immunophénotypage des leucémies aiguës myéloïdes de l'adulte : quelle valeur pronostique ?

Naouel Ben Salah*, Emna Gouider*, Hajer Aounallah Skhiri**, Wijdene El Borgi*, Moenes Jouabli*, Fatma Ben Lakhal*, Ramzi Jeddi*, Raouf Hafsia*.

*Département d'Hématologie. Faculté de médecine de Tunis. Université Tunis El Manar.

** Institut National de la Santé Publique

N. Ben Salah, E. Gouider, H. Aounallah Skhiri, W. El Borgi, M. Jouabli, F. Ben Lakhal, R. Jeddi, R. Hafsia.

N. Ben Salah, E. Gouider, H. Aounallah Skhiri, W. El Borgi, M. Jouabli, F. Ben Lakhal, R. Jeddi, R. Hafsia.

Immunophénotypage des leucémies aiguës myéloïdes de l'adulte :
quelle valeur pronostique ?

Immunophenotyping in adult acute myeloid leukemia: which
prognostic value?

LA TUNISIE MEDICALE - 2012 ; Vol 90 (n°08/09) : 602 - 205

LA TUNISIE MEDICALE - 2012 ; Vol 90 (n°08/09) : 602 - 205

R É S U M É

Pré-requis : La place de l'immunophénotypage dans le diagnostic des LAM n'est plus contestée. Cependant, sa valeur pronostique reste controversée devant les résultats contradictoires rapportés.

But : Evaluer l'impact pronostique de l'immunophénotypage dans les LAM.

Méthodes : Notre étude est rétrospective (octobre 2005 - juillet 2007) et concerne 56 cas de LAM (LAM3 exclue) de novo de l'adulte âgé de 18 à 55 ans diagnostiqués et pris en charge à l'Hôpital Aziza Othmana de Tunis. Un immunophénotypage est réalisé sur un cytomètre en flux EPICS XL-MCL Beckman Coulter®. Nous avons étudié les caractéristiques cliniques et biologiques au diagnostic, les expressions immunophénotypiques, et les paramètres de la réponse au traitement : rémission complète (RC), survie globale (SG), rechute et survie sans rechute (SSR) à 1 an et 2 ans.

Résultats : L'âge médian est de 37,7±11.8 ans. Le sex-ratio (H/F) est de 1,33. Seul le CD7 est associé à la non obtention de RC (p=0.044). Nous n'avons pas mis en évidence d'association statistiquement significative entre les expressions immunophénotypiques avec la SG ni avec la rechute ou la SSR.

Conclusion : L'immunophénotypage dans les LAM ne semble pas avoir un impact pronostique évident vu les résultats hétérogènes et contradictoires. La recherche d'anomalies moléculaires associées serait une alternative intéressante dans notre contexte.

S U M M A R Y

Background: Immunophenotyping is an essential step in the diagnosis of acute myeloid leukemia. Its prognostic value remains controversial with contradictory results.

Aim: To assess prognostic impact of the immunophenotyping in AML.

Methods: Our study is retrospective (October, 2005 - July, 2007) concerning 56 cases of AML (AML3 excluded) of the adult from 18 to 55 years old diagnosed and treated in Tunis Aziza Othmana Hospital. The immunophenotyping was performed by flow cytometry (Beckman Coulter EPICS XL MCL®). We studied clinical and biological characteristic, immunophenotypic expressions, and parameters of the response to the treatment: complete remission (CR), overall survival (OS), relapse free survival (RFS) and relapse in a delay of 1 year and 2 years. SPSS software was used to perform the statistical analysis

Results: The median age of the patients is of 37,7±11.8 years. Sex-ratio (M/F) is 1.33. Among individual antigenic expressions, only CD7 is associated to lower CR rates (p=0.044). We did not find any statistically significant association between immunophenotypic expressions and OS nor with relapse or RFS.

Conclusion: The impact of immunophenotyping in AML remains controversial because of contradictory results. The research of molecular changes would be an interesting alternative in our context.

Mots-clés

Leucémie aigue myéloblastique –Immunophénotypage- rémission-survie

Key- words

Acute myeloblastic leukemia –Immunophenotyping- remission-survival

Le diagnostic d'une leucémie aigue myéloïde (LAM) ne se limite plus à une caractérisation morphologique. Il est basé en plus sur l'immunophénotypage (IP), l'étude cytogénétique et la biologie moléculaire [1, 2]. L'étude en cytométrie de flux (CMF) des blastes permet de spécifier la lignée cellulaire, son degré de maturation ainsi que les expressions aberrantes éventuelles.

Il est actuellement admis par le Groupe Européen d'Etude Immunophénotypique des LA (EGIL) que l'IP est systématique dans la démarche diagnostique des LAM [3]. Si la place de l'immunophénotypage dans le diagnostic des LAM est indiscutable, sa valeur pronostique suscite encore des débats, vu les résultats contradictoires.

L'objectif de cette étude est d'étudier la valeur pronostique de l'immunophénotypage dans les LAM dans l'obtention de la rémission complète (RC), la survie globale (SG), la rechute et la survie sans rechute (SSR).

PATIENTS ET METHODES

Notre étude est rétrospective (Octobre 2005 - Juillet 2007). Elle a intéressé 56 cas de LAM de novo non promyélocyaires de l'adulte de 18 à 55 ans et traités selon le protocole Tunisien du traitement des LAM inspiré du protocole du groupe anglais Medical Council Research MRC [4]. Plusieurs explorations ont été réalisées pour chaque patient :

- Un hémogramme et un myélogramme coloré au May Grönwald Giemsa (MGG). Les LAM sont classées selon la classification Franco Américano Britannique (FAB).
- Un caryotype médullaire en cytogénétique conventionnelle.
- Un immunophénotypage réalisé sur la moelle osseuse (MO) est analysé avec un cytomètre en flux EPICS XL-MCL Beckman Coulter® muni d'un logiciel System II.

Un panel d'anticorps monoclonaux, marqués par différents fluorochromes (FITC, PE, PC5), est fourni par Beckman Coulter®. Le fenêtrage des blastes se fait sur le cytogramme CD45/side scatter (SSC). Le panel des anticorps utilisé comprend les marqueurs d'immaturité, myéloïdes et lymphoïdes B et T avec utilisation de contrôles isotypiques.

Les marquages intra cytoplasmiques cCD22, cCD79a, cMPO et cCD3 sont réalisés par le Kit INTRA PREP®.

L'identification de la lignée des blastes obéit aux critères du Score du Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies (EGIL) [3, 5, 6].

Nous avons analysé les caractéristiques hématologiques au diagnostic, les expressions immunophénotypiques, et les paramètres de la réponse au traitement : RC, SG, rechute et SSR à 1 an et 2 ans.

L'étude de la valeur pronostique de l'immunophénotypage a inclus les expressions antigéniques individuelles : HLA-DR, CD34, CD13, CD33, CD65, CD117, CD7, CD15, CD56 ainsi que certaines combinaisons phénotypiques dont l'impact pronostique a été rapporté dans la littérature (HLADR/CD34, CD7/CD56, CD7/CD34, HLADR/CD14 et le phénotype panmyéloïde MPO+/CD13+/CD33+/CD65+/ CD117+).

L'analyse des données a été réalisée au moyen du logiciel SPSS

dans sa version 15, et du logiciel STATA dans sa version 9.0. Le seuil de signification a été fixé à 0,05. Les données de survie ont été étudiées en établissant des courbes de survie selon la méthode de Kaplan Meyer.

RÉSULTATS

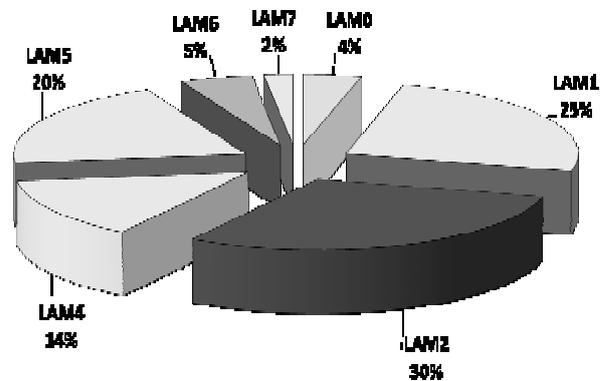
CARACTERISTIQUES CLINICO-BIOLOGIQUES

L'âge médian des patients est de $37,7 \pm 11,8$ ans (19-55 ans).

Le sex ratio (M/F) est de 1.33. Le taux médian des globules blancs est de $36850/\text{mm}^3$ ($800 - 274\ 000 \text{ GB}/\text{mm}^3$).

Le diagnostic cytologique est basé sur la classification FAB (figure 1).

Figure 1 : Répartition selon la classification FAB



REPONSE AU TRAITEMENT :

La réponse au traitement est variable. La RC est obtenue dans 75% des cas. La SG est de 70% à 1 an et de 67% à 2 ans. La rechute est survenue dans 33,3% des cas. La SSR est de 63% à 1 an et de 55% à 2 ans.

ETUDE DE L'IMPACT PRONOSTIQUE DE L'IMMUNOPHENOTYPAGE :

- La rémission cytologique :

L'étude des expressions antigéniques individuelles n'a pas montré des résultats significatifs. Seul le CD7 est associé à un mauvais pronostic avec des taux de RC plus bas ($p=0,044$) (Tableau 1). Nous n'avons pas trouvé d'associations significatives entre les profils immunophénotypiques étudiés et la RC.

- La survie globale :

Selon les données de cette étude, la SG n'est influencée par aucune expression antigénique.

- Rechute et survie sans rechute :

De même, cette étude n'a pas révélé d'influence significative des expressions antigéniques, individuelles ou combinées, étudiées sur la survenue de rechute et la SSR.

Tableau 1 : RC selon l'immunophénotypage

Marqueurs étudiés	RC+	RC-	Total	P
HLA-DR		10	43	0,72
Positif	33	4	13	
Négatif	9			
CD34		7	26	0,76
Positif	19	7	30	
Négatif	23			
CD33		13	43	0,15
Positif	30	1	13	
Négatif	12			
CD13		10	42	1,000
Positif	32	2	8	
Négatif	6			
CD65		6	20	0,60
Positif	14	8	34	
Négatif	26			
CD117		6	23	0,93
Positif	17	8	32	
Négatif	24			
CD15		5	21	0,37
Positif	16	9	25	
Négatif	16			
CD56		5	12	0,254
Positif	7	8	39	
Négatif	31			
CD7		4	8	0,044
Positif	4	6	42	
Négatif	35			

DISCUSSION

La valeur pronostique de la cytogénétique et de la génétique moléculaire dans les LAM est clairement et définitivement établie. Celle de la CMF est encore sujette à débats, avec des résultats contradictoires. L'impact de l'expression antigénique individuelle ou de combinaisons antigéniques sur l'obtention de la RC, la SG et la SSR est suggéré par certains auteurs. Dans la majorité des études (uni ou multicentriques), la valeur pronostique de chaque expression antigénique est analysée individuellement. De rares études ont évalué l'impact des associations antigéniques.

Plusieurs antigènes ont été étudiés pour les évaluer dans le pronostic des LAM. L'expression du CD 34 a été significativement corrélée à un taux plus faible de RC, à une incidence plus élevée de LA secondaires, et à un risque plus élevé de rechute, ainsi qu'une survie globale plus courte [7-9]. Ces résultats n'ont pas été confirmés par d'autres auteurs [10, 11]. L'expression du HLA DR ne serait pas associée au pronostic des LAM [8, 10, 11]. Seul Repp et al, dans une étude uni variée de 783 cas, retrouve que le HLA DR est associé de manière significative à des taux de RC plus bas, sans impact sur la survie [12].

Dans notre série, l'étude de l'expression du CD34 et du HLA-DR ne révèle aucun impact pronostique sur la réponse au traitement.

La co-expression du HLA-DR et du CD34 est associée à un

taux plus bas de RC par rapport à l'expression isolée de l'un de ces deux marqueurs. Leur absence simultanée est par ailleurs associée à un meilleur taux de RC [8]. Dans notre série, l'impact pronostique attribué aux différentes combinaisons d'expression de ces deux marqueurs n'a pas été retrouvé. L'étude de la valeur pronostique du CD13 dans l'évolution des LAM révèle également des résultats contradictoires. Il est corrélé, dans certaines séries à de mauvaises RC et SG [12, in 13]. Aucune association entre le CD 13 et le pronostic n'est retrouvée dans une autre série [10].

La revue de littérature n'a pas révélé d'association entre le CD33 et la réponse au traitement [13]. Pour le CD 117, les études sont limitées et contradictoires [12, 14]. Conformément à la plupart des résultats de la littérature, notre étude n'a pas retrouvé d'impact pronostique direct à l'expression du CD13, du CD33, du CD117 et du CD65 rarement étudié.

Une corrélation du CD14 à un taux faible de RC et à une survie globale plus courte a été rapportée [11,15]. D'autres auteurs, n'ont associé le CD14 à aucun impact pronostique [in13]. Le CD15 a été associé à des taux de RC plus élevés après chimiothérapie d'induction [in13]. L'impact pronostique des ces deux marqueurs, rapporté dans la littérature, n'a pas été retrouvé dans notre étude. L'association du phénotype CD14+/HLA-DR- à une survie plus courte a été décrite [15]. Cet impact n'a pas été retrouvé dans notre série.

Le phénotype panmyéloïde serait de meilleur pronostic [13]. Il est associé à des taux plus élevés de RC, de SG et SSR [10]. Ce groupe représenterait une entité biologiquement plus homogène au sein des LAM. Ces patients sont d'âge plus jeune, ont une activité P Glycoprotéine (Pgp) plus basse et une meilleure sensibilité au traitement. Une étude fonctionnelle de la Pgp a révélé une activité plus basse en cas de phénotype panmyéloïde [10]. Dans notre étude le bénéfice pronostique de ce phénotype n'a pas été vérifié.

Les expressions aberrantes correspondent à l'expression d'antigènes de la lignée lymphoïde B ou T dans les LAM.

Les LAM avec expression aberrante du CD7 ont été reconnues comme entités distinctes par plusieurs groupes d'étude [in13]. L'expression antigénique aberrante est souvent reconnue par de nombreux auteurs comme un facteur de mauvais pronostic dans les LAM. L'expression du CD7 est corrélée avec un taux de RC plus bas, à une survie globale plus courte [7, 16]. Ces résultats n'ont pas été confirmés dans d'autres séries [8, 10]. Notre étude confirme l'impact péjoratif de l'expression du CD7 sur l'obtention de la RC. L'étude de la valeur pronostique du CD56 a révélé, elle aussi, des résultats contradictoires. Il est associé à une survie globale plus courte et un taux de RC plus bas [8, 17]. Aucun impact pronostique n'a été retrouvé dans une autre série [10]. Dans notre série, l'étude du CD56 n'a pas révélé un impact pronostique. Certains auteurs ont rapporté une association entre la co-expression du CD7 et du CD56 et un taux de RC plus bas [18, 19]. Dans notre série, nous n'avons pas trouvé d'association significative entre le phénotype CD7+/CD56+ et le pronostic.

L'impact pronostique du CD2 et du CD 19 est très controversé. Ces deux marqueurs ont été associés à une meilleure réponse au traitement, à des durées de rémission et de survie globale plus

prolongées [20]. Alors qu'une autre série n'a montré aucune valeur pronostique à l'expression de ces 2 antigènes. D'autres auteurs les ont, au contraire, associés à un taux plus bas d'obtention de RC [11, 15]. Le CD2 n'est pas exprimé dans aucune LAM dans notre série. Le CD19 est exprimé dans un seul cas, son impact pronostique n'est donc pas statistiquement évaluable.

La TdT (Terminal deoxynucleotidyl transferase) interagit avec les noyaux des précurseurs B et T normaux ainsi qu'avec leurs équivalents néoplasiques. Elle est exprimée dans 18% des LAM [10]. Sa valeur pronostique n'a pas été clairement établie. Une association entre l'expression de la TdT et les anomalies chromosomiques a été rapportée [7], ces résultats n'ont pas été corroborés par d'autres auteurs [8, 10]. L'association de l'expression de la TdT avec des survies plus prolongées et de taux de RC plus élevés a été décrite [21]. La TdT n'a pas été étudiée dans notre série.

Références

- Swirsky DM, Richards JJ. Laboratory diagnosis of acute myeloid leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001; 14:1-17.
- Zuo Z, Chandra P, Wen YH, Koeppe H. Molecular diagnosis of acute myeloid leukemia. *Diagn Histopathol* 2009; 15:531-9.
- Latger -Cannard V, Jamain N, Lesesve JF, Buisine J. Immunophénotypage des leucémies aiguës : utilisation du CD 45en troisième couleur pour améliorer la discrimination des cellules blastiques. *Rev Fr Lab* 2000 ; 319 : 37-43.
- Burnett AK, Goldstone AH, Stevens RM et al. Randomized comparison of addition of autologous bone-marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. UK Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Lancet*. 1998 ; 7;351(9104):700-8.
- Konoplev S, Bueso-Ramos CE. Advances in the pathologic diagnosis and biology of acute myeloid leukemia. *Annals Diagn Pathol* 2006; 10:39-65
- Valensi F. Classification des leucémies aiguës. Apports des propositions de l'Organisation mondiale de la santé. *Encycl méd chir* 2003, Hématologie ; 13-018-G-05.
- Casasnovas RO, Slimane FK, Garand R, et al. Immunological classification of acute myeloblastic leukemias: relevance to patient outcome. *Leukemia*. 2003; 17:515-27.
- Chang H, Salma F, Yi QL et al. Prognostic relevance of immunophenotyping of 379 patients with acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2004; 24:43-48.
- Geller RB, Zuhurak M, Hurwitz CA et al. Prognostic importance of immunophenotyping in adults with acute myelocytic leukaemia: the significance of the stem-cell glycoprotein CD34 (My10). *Br J Haematol*. 1990 ; 76 : 340-47. Abstract
- Légrand O, Perrot JY, Baudard M et al. The immunophenotype of 177 adults with acute myeloid leukemia: proposal of a prognostic score. *Blood* 2000; 96: 870-7.
- Bradstock K, Matthews J, Benson E, Page F, Bishop J, and "the Australian Leukaemia Study Group". Prognostic value of immunophenotyping in acute myeloid leukemia. *Blood* 1994; 84: 1220-25.
- Repp R, Schaekel U, Helm G et al. Immunophenotyping is an independent factor for risk stratification in AML. *Cytometry Part B (Clinical cytometry)* 2003; 53 (B): 11-19.
- Mason KD, Juneja SK, Szer J. The immunophenotype of acute myeloid leukemia: is there a relationship with prognosis? *Blood Reviews* 2006 ; 20 : 71-82.
- Stoppa AM, Vey N, RBouabdallah R et al. Pronostic et traitement des leucémies aiguës myéloblastiques. *Encycl Méd Chir* 2002, Hématologie ; 13-018-G-50.
- Solary E, Casasnovas RO, Campos L et al. Surface markers in adult acute myeloblastic leukemia: correlation of CD19+, CD34+ and CD14+/DR--phenotypes with shorter survival. Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies (GEIL). *Leukemia* 1992; 6 : 393-99. Abstract.
- Kita K, Miwa H, Nakase K et al. Clinical importance of CD 7 expression in acute myelocytic leukemia. The Japan Cooperative Group of Leukemia/Lymphoma. *Blood* 1993; 81: 399-407.
- Raspadori D, Damiani D, Michieli M et al. CD56 and PGP expression in acute myeloid leukemia: impact on clinical research outcome. *Haematologica* 2002 ; 87 : 1135-40.
- Pera G, Domingo A, Villamor N et al. Adverse prognostic impact of CD 36 and CD2 expression in adult de novo acute myeloid leukemia patients. *Leuk. Res* 2005; 29:1109-16.
- Kahl C, Florschütz A, Leuner S et al. Immunophenotypic analysis enables the correct prediction of t(8,21) in acute myeloid leukemia. *Br J Haematol* 1998; 102:444-8.
- Ball ED, Davis BR, Griffin JD et al. Prognostic value of lymphocyte surface markers in acute myeloid leukemia. *Blood* 1991; 77: 2242-50.
- Venditti A, Del Poeta G, Buccisano F et al. Prognostic relevance of the expression of TdT and CD7 in 335 cases of acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1998;12 1056-63.
- Kern W, Bacher U, Haferlach C, Schnittger S, Haferlach T. The role of multiparameter flow cytometry for disease monitoring in AML. *Best Pract Res Clin Haematol* 2010; 379-90.

CONCLUSION

L'étude de l'expression antigénique dans les LAM, par CMF, ne semble pas avoir un impact pronostique évident vu les résultats hétérogènes et contradictoires. Aussi, la recherche d'anomalies moléculaires associées, et le développement du suivi de la maladie résiduelle en CMF seraient des alternatives intéressantes à développer dans notre contexte.