



Profil cytologique et cytogénétique de 378 cas de leucémies aiguës myéloïdes dans un centre Tunisien

Cytological and cytogenetic profile of 378 cases of acute myeloid leukemia in a Tunisian center

Wided Maatamri¹, Imene Kaawich¹, Nejja Braham¹, Halima Sendi², Amina Bouatay¹, Ali Saad², Abderrahman Khelif³, Mondher Kortas¹

1. *Laboratoire d'hématologie, CHU Farhat Hached de Sousse / faculté de pharmacie de Monastir*
2. *Laboratoire de cytogénétique, CHU Farhat Hached de Sousse / Faculté de médecine de sousse*
3. *Service d'hématologie clinique, CHU Farhat Hached de Sousse / faculté de médecine de Sousse*

RÉSUMÉ

Introduction: Les leucémies aiguës (LA) représentent la première hémopathie maligne diagnostiquée et traitée en Tunisie.

Objectif: Décrire les caractéristiques démographiques, cytologiques, cytogénétiques et pronostiques des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) au centre Tunisien sur une période de 11 ans.

Méthodes: Une étude rétrospective a été réalisée sur une série de cas de LAM diagnostiqués à l'hôpital Farhat Hached de Sousse, entre Janvier 2009 et Décembre 2019. L'analyse cytologique, selon la classification French-American-British, et l'analyse cytogénétique, ont permis de classer les LAM selon les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé de 2016. Le pronostic a été établi selon les recommandations de *European Leukemia Net*.

Résultats: Le diagnostic d'une LAM a été confirmé chez 378 cas d'âge médian au diagnostic de 43 ans et de sex-ratio de 1,32. Les LAM avec maturation ont été observées dans 31% des cas. Les anomalies récurrentes ont été détectées dans 25% des caryotypes, dominées par la translocation t(15;17). Cette dernière a été associée à 75% des LA Promyélocytaire. Les anomalies cytogénétiques associées aux myélodysplasies ont été détectées chez 17% des cas, dont 59% avaient un caryotype complexe. Les LAM sans spécification particulière représentaient 57% des LAM. Par ailleurs, 55% des patients avaient un pronostic intermédiaire.

Conclusion: L'absence de registre Tunisien des hémopathies malignes ainsi que l'augmentation de l'incidence des LAM imposent la réalisation d'études épidémiologiques afin de dresser le profil cytologique et cytogénétique de la population tunisienne. Ceci permettra de renforcer les moyens diagnostiques et thérapeutiques et d'améliorer la survie des patients.

Mots-clés: Leucémie aiguë myéloïde, Organisation Mondiale de la Santé, moelle osseuse, caryotype, biologie moléculaire.

ABSTRACT

Introduction: Acute leukemia (AL) represents the first hematological malignancy diagnosed and treated in Tunisia.

Objective: To describe the demographic, cytological, cytogenetic and prognostic characteristics of acute myeloid leukemia (AML) in the Tunisian center over a period of 11 years.

Methods: A retrospective study was performed on a series of AML cases diagnosed at Farhat Hached Hospital in Sousse, between January 2009 and December 2019. Cytological analysis according to the French-American-British classification and cytogenetic and molecular analysis allowed to classify AML according to the World Health Organization recommendations of 2016. The prognosis was established according to the recommendations of *European Leukemia Net*.

Results: The diagnosis of AML was confirmed in 378 cases with a median age at diagnosis of 43 years and a sex ratio of 1.32. AML with maturation was observed in 31% of cases. Recurrent abnormalities were detected in 25% of karyotypes, dominated by the t(15;17) translocation. The latter was associated with 75% of promyelocytic LA. Cytogenetic abnormalities associated with myelodysplasias were detected in 17% of cases, 59% of which had a complex karyotype. AMLs without specificity accounted for 57% of AMLs. Furthermore, 55% of patients had an intermediate prognosis.

Conclusion: The lack of a Tunisian registry of hematological malignancies and the increasing incidence of AML, require epidemiological studies to establish the cytological and cytogenetic profile of the Tunisian population. This will allow us to reinforce the diagnostic and therapeutic means with the ultimate goal of improving the survival of patients.

Keywords: acute myeloid leukemia, World Health Organization, bone marrow, karyotype, molecular biology

Correspondance

Wided Maatamri

Laboratoire d'hématologie, CHU Farhat Hached de Sousse / faculté de pharmacie de Monastir

E-mail : maatamriwided@gmail.com

INTRODUCTION

Les Leucémies Aiguës Myéloïdes (LAM) représentent un groupe hétérogène d'hémopathies malignes issues de la transformation oncogénique des progéniteurs hématopoïétiques. Son incidence est en constante augmentation, probablement en rapport avec l'augmentation de l'espérance de vie (1, 2). Sa fréquence est sensiblement plus importante chez les hommes, liée à l'exposition environnementale au Benzène et aux radiations ainsi qu'à la présence de mutation ou délétion des gènes suppresseurs des tumeurs liés à l'X (3). La classification des LAM a longtemps été fondée sur l'analyse morphologique de la classification French-American-British (FAB). Elle permet de fournir une réponse rapide et une orientation vers un sous-groupe chromosomique particulier (2, 4). L'avènement de la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus adaptée à l'évaluation pronostique et thérapeutique, a intégré les données morphologiques et la caractérisation chromosomique et moléculaire (5). Les LAM ont un pronostic péjoratif et constituent la principale cause de décès leucémique. Toutefois, l'amélioration des traitements de support, l'ajustement de l'intensité des traitements au risque de rechute, et récemment l'introduction de la thérapie ciblée, ont modifié la survie globale (2).

Devant l'absence de registre Tunisien des hémopathies malignes et l'hétérogénéité de la maladie, il est indispensable d'approfondir les études épidémiologiques portant sur ce problème de santé. Un état des lieux permettrait d'estimer l'incidence des LAM et de déduire les besoins diagnostiques et thérapeutiques de la population tunisienne. Il permettrait également de cibler les patients pouvant bénéficier de l'avènement des thérapies ciblées et de détecter les facteurs responsables de morbi-mortalité importante.

L'objectif de ce travail était de dresser le profil cytologique et cytogénétique des LAM, selon l'âge et le sexe. En se basant également sur les recommandations de la classification OMS 2016, nous avons établi la fréquence des anomalies cytogénétiques et évalué le pronostic des patients atteints de LAM dans le centre Tunisien sur une période de 11 ans.

METHODES

Type d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale rétrospective, menée à l'hôpital Farhat Hached de Sousse, sur une série de cas de LAM, diagnostiquées entre Janvier 2009 et Décembre

2019 dans la région du centre Tunisien.

Une étroite collaboration entre le service d'hématologie clinique, le laboratoire d'hématologie et le laboratoire de cytogénétique du même hôpital, a permis la réalisation de ce travail.

Le recensement des cas de LAM a été réalisé à partir des registres de myélogramme du laboratoire d'hématologie. Les résultats du caryotype et de l'analyse moléculaire ont été collectés à partir de la base de données interne du laboratoire de cytogénétique. Les données démographiques (âge, sexe) ont été fournies par le service d'hématologie clinique à partir des dossiers des patients.

Population d'étude

Critères d'inclusion: Tous les patients ayant une LAM et originaires de la région du centre Tunisien ont été inclus. Cette région englobe les gouvernorats de Sousse, de Kairouan, de Kasserine et de Sidi Bouzid, d'une superficie totale de 25.041 km² et qui comptaient 2.238.612 habitants en 2019 d'après l'Institut National Tunisien des Statistiques.

Tous les cas de LAM ont été diagnostiqués sur un prélèvement médullaire contenant plus de 20% de blastes et positifs à la cytochimie de la myéloperoxydase (MPO) (Seuil de 3% des blastes). Ils ont tous bénéficiés d'une étude cytogénétique et/ou de biologie moléculaire.

Critères de non inclusion: Les patients ayant une LA d'aspect indifférencié ou lymphoblastique avec une cytochimie de la MPO négative (LAM avec différenciation minime (M0-FAB) ou LAL) ont été exclus.

Recueil des données: Les données cytologiques du myélogramme ainsi que les données du caryotype et de biologie moléculaire ont été recueillies à partir des registres des comptes rendus des myélogrammes et des résultats de la cytogénétique.

Tous les patients ont bénéficié:

- D'un hémogramme avec analyse du frottis sanguin coloré au May Grunwald Giemsa (MGG).
- D'une ponction médullaire qui a permis la réalisation:
 - o D'une étude cytologique selon la classification FAB par trois cytologistes différents, sur des frottis médullaires colorés au MGG.
 - o D'une étude cytochimique de la MPO par la technique à la pyronine.
 - o D'un caryotype après culture pendant 16 et 24 heures

et marquage en bande réverse (étude cytogénétique conventionnelle). Les données cytogénétiques ont été interprétées selon la nomenclature internationale (6).

- D'une recherche spécifique du gène de fusion PML-RARA (Promyelocytic leukemia/ retinoic acid receptor alpha), MLL (Mixed-Lineage Leukemia) et BCR-ABL (Breakpoint Cluster Region Abelson) par la technique d'hybridation in situ en fluorescence (FISH) et la réaction de transcription inverse puis amplification (RT-PCR).

Les patients ont été reconsidérés selon la classification de l'OMS 2016 (5).

La stratification cytogénétique du risque des LAM selon les recommandations de l'European Leukemia Net (ELN) révisées en 2017 (7), a permis d'individualiser trois groupes pronostiques indépendants de l'âge des patients (enfant ou adulte):

- Groupe de bon pronostic, les patients porteurs des translocations t(8;21), inversion du chromosome 16 : inv(16)(p13.3q24.3) ou t(16;16)
- Groupe de pronostic intermédiaire, les patients ayant un caryotype normal, un échec de pousse cellulaire, ou une anomalie ne figurant pas dans les anomalies de bon ou mauvais pronostic.
- Groupe de mauvais pronostic, les patients porteurs des anomalies suivantes: inv(3)(q21q26.2), t(3;3)(q21;q26.2), t(6;9)(p23;q34); t(v;11)(v;q23); monosomie ou délétion partielle du bras long du chromosome 5:(-5/5q-); -7; anomalie (17p), caryotype complexe (3 anomalies ou plus) ou t(9;22)(q34.1;q11.2) ou BCR-ABL1.

Analyse statistique

La saisie et l'analyse des données ont été effectuées grâce au logiciel Statistical Package For Social Science (SPSS Version 20).

Les variables catégoriques ont été résumées par des fréquences absolues et des pourcentages. Les variables quantitatives ont été décrites par des médianes et des écarts interquartiles. La distribution des variables a été réalisée par le test Kolmogorov-Smirnov.

Le taux d'incidence estimé a été calculé en rapportant le nombre de cas recensés à la durée de la période d'étude dans la population de la région du centre Tunisien d'après le recensement de 2019. Il est exprimé en nombre de cas /100000 habitants/ an.

RÉSULTATS

Données démographiques

Nous avons collecté 378 cas de LAM entre Janvier 2009 et Décembre 2019, en se basant sur l'analyse cytogénétique d'un prélèvement de moelle et sur les résultats de l'étude cytogénétique. Le taux d'incidence estimé a été de 1,53 cas/100000/an dans la région du centre Tunisien. L'âge médian au diagnostic était de 43 ans avec des extrêmes allant de 2 mois à 89 ans. Une nette prédominance des patients âgés de plus de 20 ans (82%) a été observée avec un pic de fréquence entre 51 et 60 ans (figure 1). Le *sex-ratio* a été de 1,23 en faveur du sexe masculin. Les patients âgés de moins de 20 ans et de plus de 50 ans avaient un *sex-ratio* égal à 2,5 et à 1,3 respectivement.

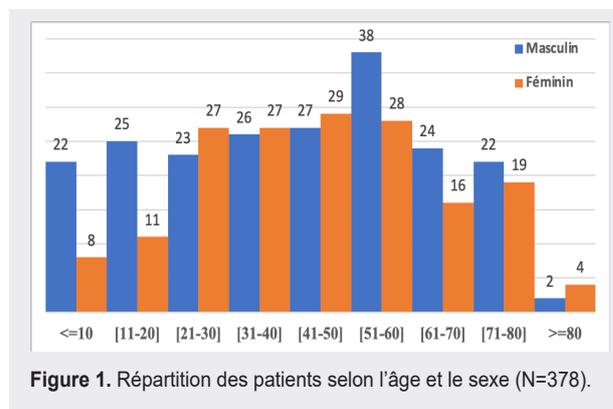


Figure 1. Répartition des patients selon l'âge et le sexe (N=378).

Répartition du type cytogénétique des LAM en fonction de l'âge et du sexe

L'analyse cytogénétique des LAM selon la classification FAB a montré une prédominance des LAM avec maturation (M2-FAB) (31%) et des LAM sans maturation (M1-FAB) (27%).

La LA promyélocytaire (M3-FAB) a été associée à un âge jeune (inférieur à 40 ans dans 75% des cas) et à une répartition égale entre les deux sexes (*sex-ratio*=1). La LA monoblastique (M5-FAB) n'a pas été détectée chez les patients âgés de moins de 10 ans. La LA érythroblastique (M6-FAB) et mégacaryoblastique (M7-FAB), étaient rares (1% et 3% des LAM respectivement) touchant essentiellement le sexe masculin.

Des difficultés de classement (LAM DAC) se sont posées dans 11% des cas, liées à des frottis pauvres, mal étalés ou à la présence d'une atypie cellulaire.

Le tableau 1 résume la répartition des cas de LAM en fonction du type cytogénétique, de l'âge et du sexe.

Tableau 1. Répartition de 378 cas de LAM diagnostiqués au CHU Farhat Hached de Sousse entre Janvier 2009 et Décembre 2019, en fonction du type cytologique, de l'âge et du sexe.

| Classification FAB | LAM DAC n =43 % | M1 n=102 % | M2 n=116 % | M3 n=36 % | M4 n =40 % | M5 n=27 % | M6 n=4 % | M7 n=10 % | Total N=378 % |
|-----------------------|-----------------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------|-----------------|---------------------|
| Tranches d'âge | | | | | | | | | |
| 0-10 ans | 7 | 6,9 | 7,8 | 13,9 | 7,5 | - | - | 30 | 7,9 |
| 11-20 ans | 4,7 | 8,8 | 10,3 | 11,1 | 12,5 | 14,8 | - | - | 9,5 |
| 21-30 ans | 16,3 | 11,8 | 10,3 | 13,9 | 15 | 14,8 | 25 | 30 | 13,2 |
| 31-40 ans | 16,3 | 12,7 | 9,5 | 36,1 | 12,5 | 14,8 | - | - | 14 |
| 41-50 ans | 9,3 | 18,6 | 14,7 | 13,9 | 15 | 18,5 | - | - | 14,8 |
| 51-60 ans | 16,3 | 19,6 | 15,5 | 8,3 | 22,5 | 25,9 | 25 | 10 | 17,5 |
| 61-70 ans | 14 | 11,8 | 12,1 | 2,8 | 7,5 | 3,7 | 25 | 20 | 10,6 |
| 71-80 ans | 16,3 | 8,8 | 15,5 | - | 7,5 | 7,4 | 25 | 10 | 10,8 |
| 81-90 ans | - | 1 | 4,3 | - | - | - | - | - | 1,6 |
| Sexe | | | | | | | | | |
| Homme | 39,5 | 54,9 | 57,8 | 50 | 57,5 | 59,3 | 75 | 90 | 55,3 |
| Femme | 60,5 | 45,1 | 42,2 | 50 | 42,5 | 40,7 | 25 | 10 | 44,7 |

DAC : difficile à classer, LAM : leucémie myéloïde aigue, M1 : LAM sans maturation, M2 : LAM avec maturation, M3 : LAM promyélocytaire, M4 : LA myélomonocytaire, M5 : LA monoblastique, M6 : LA érythroblastique, M7 : LA mégacaryoblastique, n : nombre.

Confrontation du profil cytogénétique à la classification cytologique FAB

L'étude cytogénétique a permis de classer 43% des cas de LAM selon les recommandations de l'OMS 2016. Les anomalies cytogénétiques récurrentes et celles liées aux myélodysplasies ont été détectées chez respectivement 25% et 17% des cas

de LAM. Les patients n'appartenant pas aux deux premières catégories, ont été classés en LAM sans spécificité particulière (LAM-NOS) où la classification FAB reste de vigueur.

Le tableau 2 résume la correspondance entre la classification FAB et OMS 2016 des cas de LAM.

Tableau 2. Correspondance entre le profil cytogénétique selon la classification OMS 2016 et cytologique selon la classification FAB des 378 cas de LAM.

| Classification FAB | M1 n=102 % | M2 n=116 % | M3 n=36 % | M4 n=33 % | M4v n=7 % | M5 n=27 % | M6 n=4 % | M7 n=10 % | LAM DAC n=43 % | Total N=378 % |
|---|------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-------------------------|---------------------|
| OMS 2016 | | | | | | | | | | |
| LAM NOS | | | | | | | | | | |
| Normal | 46,1 | 43,1 | 5,6 | 45,5 | 42,9 | 37 | 50 | 30 | 23,3 | 37,6 |
| Autres anomalies inclassables | 16,7 | 9,5 | 2,8 | 18,2 | - | 18,5 | - | 10 | 9,3 | 11,9 |
| Échec | 3,9 | 4,3 | 8,3 | 6,1 | 28,6 | 14,8 | - | 20 | 16,3 | 7,7 |
| Anomalies cytogénétiques récurrentes | | | | | | | | | | |
| t (15;17) (q24.1; q21.2) ou PML-RARA | 1 | 2,6 | 83,3 | 3 | - | - | - | - | 11,6 | 10,6 |
| t (8;21) (q22;q22) | 4,9 | 12,9 | - | 9,1 | - | - | - | - | 4,7 | 6,6 |
| t (9;22) (q34;q11.2) ou BCR-ABL | 6,9 | 1,7 | - | 6,1 | - | 7,4 | - | 10 | 7 | 4,5 |
| inv (16) (p13; q22) | 2 | 2,6 | - | 6,1 | 28,6 | 3,7 | - | - | - | 2,6 |
| t (9 ;11) (p21.3;q 23.3) | 1 | - | - | - | - | 3,7 | - | - | - | 0,5 |
| inv (3) (q21.3q 26.2) ou t (3;3) (q21.3 ; q26.2) | 1 | 0,9 | - | - | - | - | - | - | - | 0,5 |
| Anomalies cytogénétiques liées aux myélodysplasies | | | | | | | | | | |
| Caryotype complexe | 10,8 | 7,8 | - | 3 | - | 11,1 | 50 | 20 | 25,6 | 10,3 |
| -7 / del (7q) | 2 | 6,9 | - | - | - | - | - | 10 | 2,3 | 3,2 |
| del (11q) | 2,9 | 1,7 | - | - | - | - | - | - | - | 1,3 |
| del (12p) / t (12p) | 1 | 1,7 | - | 3 | - | 3,7 | - | - | - | 1,3 |
| del (5q) / t (5q) | - | 3,4 | - | - | - | - | - | - | - | 1,1 |
| t(1;3) (p36.3;q21.2) | - | 0,9 | - | - | - | - | - | - | - | 0,3 |

ABL: Abelson proto-oncogene , BCR: Breakpoint cluster region gene , del:délétion , in:inversion, LAM : leucémie myéloïde aigue, NOS: not otherwise specified, n : nombre, : OMS : Organisation Mondiale de la Santé, PML-Rara : Promyelocytic leukemia-retinoic acid receptor alpha, , t :translocation

LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes

L'anomalie cytogénétique la plus fréquente a été la t(15;17) et son gène de fusion PML-RARA, représentant 41% des anomalies récurrentes et associée à 83% des (M3-FAB). Il faut noter que cette translocation a été également détectée dans 5 cas de LAM-DAC.

La deuxième anomalie la plus fréquente a été la t(8;21), représentant 26% des anomalies récurrentes et associée dans 60% des cas à une (M2-FAB).

La t(9;22) et son équivalent moléculaire BCR-ABL1 a été détectée chez 4% des cas.

Anomalies cytogénétiques associées aux myélodysplasies

Le caryotype complexe a représenté 59% des anomalies cytogénétiques de cette catégorie et a été essentiellement associé aux LAM-DAC et (M1-FAB).

La (M2-FAB) a été le type cytologique le plus fréquemment associé aux anomalies liées aux myélodysplasies (39%).

Quant aux (M6-FAB) et (M7-FAB), elles avaient respectivement une fréquence d'anomalies cytogénétiques de 50% et 30%.

LAM sans spécificité particulière

Cette catégorie a regroupé 216 patients, ayant un caryotype normal dans 66% des cas, une anomalie cytogénétique inclassable dans 21% des cas et un échec de pousse dans 13% des cas.

Hormis les cas de (M3-FAB), où l'étude cytogénétique a permis de confirmer le diagnostic dans 83% des cas, l'étude cytogénétique n'a pas apporté d'orientation pronostique dans 67% des cas de (M1-FAB), 57% des cas de (M2-FAB) et 70% des LA myélomonocytaire (M4-FAB).

Pronostic des LAM

En se basant sur les recommandations de l'ELN (7), 55% des LAM appartenait au groupe de pronostic intermédiaire, suivi du groupe de mauvais pronostic dans 34% des cas. Le groupe de bon pronostic n'a représenté que 11% des LAM.

DISCUSSION

Malgré l'augmentation de l'incidence des LAM en Tunisie, peu d'études portaient sur ce problème de santé publique. Cette étude rétrospective a permis de décrire les caractéristiques démographiques des LAM de la région du centre Tunisien et de

déduire leur pronostic, en se basant sur leur profil cytologique et cytogénétique.

Néanmoins, cette étude n'a pas été à l'abri d'éventuels biais de sélection, limitant faiblement la validité de ses résultats. Il faut noter que les LAM ont été probablement sous-diagnostiqués, vu l'exclusion des cas de (M0-FAB) qui représentent moins de 1% des LAM de la région du centre Tunisien (1). Nous supposons que l'accès au soin, limité dans les zones rurales pourrait être une source potentielle de biais. Il faut également noter que l'absence de certaines analyses cytogénétiques moléculaires (NPM1 ou FLT3), ne constituent pas une limite à la stratification du risque, puisque les groupes de risque cytogénétique ont tous été définis sur le plan cytogénétique et que toutes les données publiées sont basées sur des analyses chromosomiques (8). Par contre, ces anomalies moléculaires constituent une cible thérapeutique et permettent de mieux individualiser la prise en charge thérapeutique (9-11).

Notre étude a montré que la (M2-FAB) était le type cytologique le plus fréquent et que la t(15;17) était l'anomalie cytogénétique la plus détectée. Le caryotype complexe a représenté 59% des anomalies cytogénétiques liées aux myélodysplasies. Les LAM-NOS ont représenté 57% des LAM dont 66% avaient un caryotype normal. La stratification du risque était semblable à celle des sujets âgés de plus de 60 ans avec une nette prédominance du groupe intermédiaire (55%).

Données démographiques

Le taux d'incidence estimé des LAM dans la région du centre Tunisien a été de 1,53cas/100000/an. Elle est en nette augmentation en Tunisie et dans le monde. Dans la région du centre Tunisien, 281 cas de LAM ont été diagnostiqués entre 1998 et 2008 contre 378 cas entre 2009 et 2019 dans notre série (1). Cette incidence dépend de l'index de développement humain (IDH), du sexe et de l'âge. Dans les pays à très fort IDH, telle que l'Australie, 4,8 cas de LAM par 100000 habitants ont été diagnostiqués contre moins de 2,3 cas par 100000 habitants dans les pays à IDH moyen telle que la Tunisie (3).

Les leucémies ont un impact socio-économique important puisqu'elles représentent le 8^{ième} cancer diagnostiqué dans la région du centre Tunisien (12). Elles sont responsables de 1,8% des hospitalisations dans la région du sud Tunisien et sont associées à une morbi-mortalité élevée (13). Les LAM représentent 1% des cancers en France et 80% des LA de l'adulte (2). Son incidence augmente avec l'âge, marquant une nette progression après 50 ans (2, 14).

Ces données démographiques sont proches de celles retrouvées dans notre série, puisque la fréquence des LAM était plus importante chez l'adulte (82% des patients). Une nette prédominance masculine a été observée (*sex-ratio* de 1,23). Cette prédominance a été également rapportée dans le monde (*Sex-ratio* de 1,35) (15), expliquée par une exposition plus fréquente aux facteurs environnementaux, de par leur activité professionnelle (utilisation des herbicides et pesticides) (13).

En revanche, la distribution en fonction de l'âge a montré une courbe uni-modale, augmentant avec l'âge. Le pic a été atteint à la cinquième décennie, suivi d'une diminution après l'âge de 70 ans. Ce phénomène a également été observé dans les pays à IDH élevé mais associé à un âge plus avancé (3). L'âge médian au diagnostic était de 43 ans, comparable aux données publiées dans les pays à faible revenu. Au Cameroun et au Burkina Faso, l'âge médian au diagnostic était respectivement de 44 ans et 42 ans (13). Par contre, selon, le Réseau Français des Registres des Cancers (FRANCIM), l'âge médian au diagnostic était de 69 ans chez l'homme (15). Cette différence observée avec les pays à revenu élevé, est probablement liée au vieillissement de leur population et à un meilleur accès aux soins chez les personnes âgées (16).

Répartition des patients ayant une LAM selon le type cytologique, l'âge et le sexe (N:378)

L'analyse cytologique des LAM selon la classification FAB a montré une nette prédominance des cas de (M2-FAB) et (M1-FAB). Ces données ont également été rapportées dans l'étude de *Braham et al* (1) ainsi que l'étude de *Nafil et al* (17), associées à une prédominance des cas de (M2-FAB) respectivement dans 24% et 28% et de (M1-FAB) respectivement dans 21% et 31% des cas.

Un pic de fréquence a été observé dans la tranche d'âge comprise entre 51 et 60 ans, indépendamment du type cytologique. A noter que seule la (M3-FAB) est caractérisée par un tableau clinique, cytologique et moléculaire particulier (18). Cette dernière a été observée chez une population plus jeune avec un pic de fréquence entre 31 à 40. Ces résultats sont proches des données nationales qui rapporte un âge moyen au diagnostic de 31,6 ans (19). Une autre particularité de cette entité a été la répartition égale entre les deux sexes, également observée en France (15).

Pour la (M5-FAB) et la (M6-FAB), nous avons constaté que les âges extrêmes n'ont pas été touchés (<10 ans et >80 ans). Il faut noter que d'une part, les LAM de l'enfant

sont rares avec une incidence annuelle estimée à 0,012 cas/100000 habitants chez les moins de 10 ans (20). D'autre part, cette tranche d'âge a été souvent associée aux aspects morphologiques de (M1-FAB), (M2-FAB) et (M3-FAB).

Les LAM DAC ont représenté 11% des cas de LAM. Ce pourcentage est semblable aux données des autres études magrébines qui ont retrouvé une fréquence de 10% (17).

Confrontation du profil cytogénétique à la classification cytologique FAB

Le caryotype est le paramètre pronostique le plus important dans les LAM. Il fournit des informations indispensables à la prise en charge thérapeutique, au pronostic et au suivi (4). La majorité des anomalies chromosomiques sont détectables par l'analyse cytogénétique conventionnelle et ont été détectées chez 55% des LAM de novo de l'adulte. Certaines de ces anomalies sont étroitement liées à un aspect cytologique particulier (2, 4).

Le caryotype et les techniques FISH et RT-PCR, ont permis de classer 43% des patients selon les recommandations de l'OMS 2016.

Anomalies cytogénétiques récurrentes

Ces anomalies ont été présentes chez 25% des LAM:

- La **t(15 ;17)** a été l'anomalie la plus fréquente (41% des anomalies récurrentes) générant un gène de fusion PML-RARA. La PML, est un oncogène pro-apoptotique et réprimant la croissance, alors que RARA réprime les gènes cibles de l'acide rétinoïque. Cette anomalie est de pronostic favorable même en association avec la trisomie 8 (18, 21). Elle a été associée dans 83% des cas à une (M3-FAB). En revanche, nous n'avons pas détecté de translocation dans six cas de (M3-FAB), ceci est probablement dû d'une part, à la présence d'un remaniement cryptique indétectable par technique conventionnelle et nécessitant le recours à la biologie moléculaire (4), qui n'a pas été réalisée d'une façon systématique devant un caryotype normal. Et d'autre part, à l'absence de pousse cellulaire concernant trois prélèvements. Il faut noter également, que la t(15;17) a été détectée dans 10 cas de LAM autre que la (M3-FAB), ceci peut être expliqué par la difficulté du diagnostic morphologique des formes variantes hypogranulaires. Il est par conséquent primordial d'alerter le cytogénéticien, devant une suspicion clinique ou biologique de (M3-FAB), afin que ce dernier puisse orienter l'analyse

cytogénétique et moléculaire, vu son impact sur la prise en charge thérapeutique et le pronostic des patients.

- **La t(8 ;21)(q22;q22)** génère le transcrite de fusion Runt Related Transcription Factor (RUNX1-RUNX1T1) ayant un pronostic favorable (22, 23). Elle représente l'anomalie cytogénétique récurrente la plus fréquente en pédiatrie (20, 24). Elle a été la deuxième anomalie récurrente la plus fréquente (7% des LAM), associée quasi exclusivement à une (M2-FAB) (13%), (M4-FAB) (9%) ou (M1-FAB) (5%). Cette corrélation a déjà été rapportée dans différentes séries, où il semble qu'une association statistiquement significative entre la t(8;21) et la (M2-FAB) a été observée (4, 25). A noter que dans 3% des cas, la présence d'une anomalie cryptique nécessite la recherche du transcrite de fusion par biologie moléculaire.
- **L'inv(16) ou la t(16;16)**, de bon pronostic avec un taux de rémission complète très élevé mais une incidence cumulée de rechute à 3 ans autour de 30% (22, 23, 26), a été retrouvée dans 3% des cas de LAM contre 5 à 8% des cas de LAM dans la littérature (4). Elle a été associée à 29% des (M4v-FAB) et plus rarement à des (M2-FAB) et (M5-FAB) (22).
- D'autres anomalies récurrentes de faible fréquence ont été observées à savoir; la t(9;11)(p21.3;q23.3), de pronostic intermédiaire (5, 22, 26). Elle a été détectée dans 1% des LAM contre 2% des LAM dans la littérature. Elle est généralement associée à une (M5-FAB) (22). Quant à l'inv(3) ou t(3;3)(q21;q26), elle ne représente pas un gène de fusion (5). Cette anomalie récurrente a été détectée dans 1% des LAM et associée exclusivement à la (M1-FAB) et (M2-FAB). Elle représente 1 à 2% des LAM dans la littérature (22).
- **Quant à la nouvelle entité provisoire de LAM avec BCR-ABL1 ou t(9;22)(q34;q11.2)**, elle permet de reconnaître les cas de LAM de novo qui peuvent bénéficier d'un traitement par les inhibiteurs de la tyrosine kinase (5, 7). Elle a été observée dans 4% des cas, contrairement aux données de la littérature qui estime sa fréquence à 1% des LAM. Nous pensons que cette incidence était probablement surestimée vu la difficulté à distinguer entre une phase blastique d'une leucémie myéloïde chronique et une LAM de Novo en l'absence d'historique du patient. Il faut noter que la LAM avec BCR-ABL1 nécessite au moins 20%

de blastes pour le diagnostic contrairement aux autres LAM avec anomalies génétiques récurrentes (10).

LAM associées à la myélodysplasie multilignée

La LAM avec dysplasie multilignée a été affinée selon l'OMS 2016 pour mieux intégrer les cas ayant un mauvais pronostic (5, 26). Ce groupe présente des taux de rémission plus faibles que les autres catégories de LAM (27).

Les anomalies cytogénétiques associées aux myélodysplasies ont été détectées dans 17% des cas. Ces résultats sont proches des données de la littérature, qui estiment que les LAM liées aux myélodysplasies représentent 25 à 35% des cas (28).

Il faut savoir qu'un caryotype complexe est défini par la présence d'au moins trois anomalies chromosomiques et par l'absence d'une anomalie cytogénétique récurrente définie par l'OMS 2016 (5). Un caryotype complexe a été détecté chez 59% des LAM liées aux myélodysplasies, représentant 10% des patients. La moitié des (M6-FAB), 26% des LAM DAC et 20% des (M7-FAB) ont été associés à un caryotype complexe. Cette incidence élevée de caryotype complexe a également été notée dans l'étude de *Bacher et al* (25), ce qui explique le mauvais pronostic associé à ces sous types cytologiques.

Quant aux autres anomalies cytogénétiques liées aux myélodysplasies, elles ont été détectées dans 7% des cas. Cette fréquence a été probablement sous-estimée puisque la recherche des anomalies de la région 5q31 et la del(12p) s'est limitée à l'utilisation de la cytogénétique conventionnelle. Il faut noter que ces anomalies touchent essentiellement les personnes âgées. Cependant, des personnes plus jeunes sont également affectées (29). L'utilisation de la technique FISH est fortement recommandée, particulièrement chez les enfants de moins de 18 mois (26). Certaines anomalies sont associées à une évolution généralement défavorable; exemple du 11q23 (30).

Les anomalies cytogénétiques liées aux myélodysplasies ont été fréquemment associées à une (M2-FAB), ce qui pourrait expliquer en partie la dysmyélopoïèse observée dans ce type cytologique. Si le diagnostic de LAM liée aux myélodysplasies est basé uniquement sur la dysplasie multilignée, la recherche des mutations de NPM1 et de CEBPA bialléliques est indispensable (31). Cette recherche n'a pas été effectuée dans notre série. Certaines études suggèrent que la dysplasie multilignée seule ne permet pas de prédire un pronostic plus défavorable chez les patients présentant une cytogénétique à risque intermédiaire et n'ayant pas d'antécédents de

syndrome myélodysplasique (25).

LAM NOS

La catégorie LAM-NOS regroupe les LAM à caryotype normal ou ayant des anomalies n'appartenant pas aux catégories précédentes. Elle a regroupé 57% des cas de LAM.

Les LAM à caryotype normal, que l'on retrouve dans environ 40 à 50% des LAM de novo (22), représentaient 38% des cas de notre série. La recherche des mutations FLT3, NPM1 et CEBPA par analyse génétique moléculaire est recommandée dans cette catégorie mais n'a pas été réalisée pour nos patients (5). En l'absence de ces mutations, ces LAM sont classées selon l'aspect cytologique de la classification FAB. Bien qu'un caryotype normal ne soit pas toujours associé à un sous-type morphologique spécifique, leur pronostic peut différer entre la (M1-FAB) ou (M2-FAB), (M4-FAB) ou (M5-FAB) (4).

Il faut noter que dans les (M1-FAB), (M2-FAB), (M4-FAB) et (M6-FAB), l'incidence de caryotype normal était supérieure à 40%. En revanche, la (M3-FAB) a affiché le taux le plus faible de caryotypes normaux avec seulement 6% des cas.

D'autres anomalies cytogénétiques, inclassables selon l'OMS 2016, ont été détectées dans 12% des LAM. Les (M4-FAB), (M5-FAB) et (M7-FAB) ont été associées à une fréquence élevée d'échec de pousse ou d'anomalies cytogénétiques inclassables.

Les différences observées avec les études réalisées en Europe sont dues à l'exclusion des cas de LAM ayant une cytochimie négative de la MPO (M0-FAB). Afin de confirmer le caractère myéloïde de ce sous-type cytologique, la réalisation d'un immunophénotypage leucocytaire est indispensable mais il n'a pas été réalisé au CHU Farhat Hached de Sousse. D'autre part, les différents moyens utilisés pour le diagnostic et l'enregistrement des cas ont pu compliquer l'interprétation des données et souligner l'importance de la standardisation des moyens (32).

Pronostic des LAM selon les recommandations de l'European leukemia Net:

Le caryotype est le facteur prédictif le plus fort de la réponse thérapeutique et du risque de rechute. Les deux classifications cytogénétiques les plus utilisées chez l'adulte sont celles de l'ELN (7), qui prend en compte les données de la biologie moléculaire, et du MRC (Medical Research Council).

La distribution des anomalies cytogénétiques dans notre

série a montré une prédominance du groupe de pronostic intermédiaire (55% des LAM), suivi du groupe de mauvais pronostic (34% des cas). Quant au groupe de pronostic favorable, il n'a représenté que 11% des cas. Une étude pédiatrique réalisée au nord tunisien a également conclu que le groupe ayant un pronostic intermédiaire était le plus fréquent (24). La distribution des anomalies varie en fonction de l'âge des patients. Les anomalies de bon pronostic sont plus fréquentes chez les patients âgés de moins de 60 ans (41%). Par contre, chez les adultes âgés de plus de 60ans, une prédominance des anomalies de pronostic intermédiaire était notée (49%), suivie des anomalies de mauvais pronostic (31%) (26). Malgré une moyenne d'âge inférieure à 60ans, le pronostic de nos patients était superposable à celui observé chez la population âgée de plus de 60 ans. Cette différence observée avec les autres études est expliquée par l'absence d'analyse moléculaire à la recherche des mutations CEBPA, NPM1 et FLT3, recommandée chez les patients ayant un caryotype normal (33). Ces patients ont été classés à défaut dans le groupe de pronostic intermédiaire. Il faut noter que la présence des mutations NPM1 (50 à 60% des caryotypes normaux) (2), ou de la CEBPA sans anomalie du FLT3 (10% des LAM de pronostic intermédiaire), confère un bon pronostic aux LAM de caryotype normal. Les anomalies du FLT3 (25 à 30% des caryotypes normaux), quant à elles, sont de mauvais pronostic (2, 34). Ces anomalies récurrentes permettent d'affiner le pronostic des patients puisqu'elles constituent une cible thérapeutique et un outil du suivi de la maladie sous chimiothérapie (2, 10, 11). C'est pour cette raison que la classification OMS des LAM continue à évoluer. Elle vise à affiner le pronostic des patients et à moduler leur prise en charge thérapeutique. Bien que la classification OMS des LAM s'est voulue universelle, multidisciplinaire et applicable à la pratique médicale quotidienne à l'échelle mondiale (35), elle semble peu adaptée aux pays de faibles revenus, où les analyses moléculaires spécifiques ne sont pas effectuées de manière systématique dans tous les centres de diagnostic en raison des coûts élevés.

CONCLUSION

Cette étude a permis une description des caractéristiques démographiques, cytologiques, cytogénétiques et pronostiques des patients ayant une LAM diagnostiquée dans la région du centre tunisien. Ces données sont primordiales dans la prise en

charge thérapeutique et le suivi de ces patients. Ces résultats pourraient être extrapolés aux différents centres tunisiens. Afin d'établir une véritable incidence des LAM en Tunisie, il faudra renforcer l'accès au soin dans les zones rurales et instaurer un registre tunisien des hémopathies malignes.

Bien que l'analyse morphologique des LAM soit le premier élément de description de la maladie, les analyses cytogénétiques et moléculaires sont considérées comme capitales dans le bilan diagnostique et pré-thérapeutique des LAM (11). L'utilisation des techniques de séquençage permettent d'établir une carte d'identité moléculaire de chaque leucémie et de mieux individualiser la prise en charge thérapeutique (10, 11). Il faudra par conséquent œuvrer pour la standardisation des moyens diagnostiques et valoriser l'apport des analyses morphologiques et cytogénétiques.

RÉFÉRENCES

- Braham-Jmili N, Sendi-Senana H, Khelif A, Saad A. Leucémies aiguës myéloïdes en Tunisie : caractéristiques épidémiologiques et cliniques et classification OMS. *J Afr Cancer*, 2010; 2 :25-32.
- Récher C, Huguet F. Leucémies aiguës myéloïdes. *EMC - Traité de Médecine Akos* 2022; 0(0): 1-12.
- Miranda-Filho A, Piñeros M, Ferlay J, Soerjomataram I, Monnereau A, Bray F. Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries: a population-based study. *The Lancet Haematol*, 2018; 5(1), e14–e24.
- Klaus M, Haferlach T, Schnittger S, Kern W, Hiddemann W, Schoch C. Cytogenetic profile in de novo acute myeloid leukemia with FAB subtypes M0, M1, and M2: a study based on 652 cases analyzed with morphology, cytogenetics, and fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet Cytogenet*. 2004; 155(1): 47-56.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127(20), 2391–405.
- Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ. *ISCN (2009): International System of Human Cytogenetic Nomenclature*. S.Karger AG, Basel 2009.
- Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017, 26; 129(4): 424-47.
- Vladimir L L, Bertil J. Why classical cytogenetics still matters in acute myeloid leukemia. *Expert Rev Hematol*; 2020; 13: 2, 95-97,
- Moueleu Ngalagou PT, Ngouadjeu Dongho Tsakeu E, Ngo Sack F, Eboumbou Moukoko EC, Konn Jolly Y, Luma H et al. Epidemiology of malignant hemopathies recorded in hospitals in Cameroon. *Med Santé Trop* 2018; 28(1): 61-66.
- Costello R, Venton G, Colle J, Ivanov V, Mercier C, Delassus L, et al. Leucémies aiguës myéloïdes de l'adulte. *EMC - Hématologie* 2018;13(4):1-12
- Lazarevic VL, Johansson B. Why classical cytogenetics still matters in acute myeloid leukemia. *Expert Rev Hematol*, 2020 : 13: 2, 95-97,
- Missaoui N, Trabelsi A, Parkin D M, Jaidene L, Chatti D, Mokni M, et al. Trends in the incidence of cancer in the Sousse region, Tunisia, 1993–2006. *Int J cancer*, 2010; 127(11): 2669-77.
- Ketata N, Mejdoub Y, Maamri H, Baklouti M, Sbou I, Karray R, et al. Profil épidémioclinique et tendances chronologiques des leucémies dans le sud Tunisien. *Rev Épidémiol Santé Publique*, 2022; 70, S235.
- Haouas H, Haouas S, Hafsia A. A retrospective study of leukemia epidemiology in Northern Tunisia. *Hematology*, 2011; 16: 3, 151-154.
- Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, Grosclaude P, Colonna M, Dantony E et al. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Synthèse. Saint-Maurice: Santé publiques France, 2019.
- Shallis RM, Wang R, Davidoff A, Ma X, Zeidan AM. Epidemiology of acute myeloid leukemia: Recent progress and enduring challenges. *Blood Rev*. 2019; 36: 70-87.
- Nafil H, Tazi I, Faez S et Benchemsi N. Profil cytologique des leucémies aiguës à Casablanca. *J Afr Cancer*. 2012; 4(2): 79-83.
- Adams J, Nassiri M. Acute Promyelocytic Leukemia: A Review and Discussion of Variant Translocations. *Arch Pathol Lab Med*. 2015; 139(10): 1308-13.
- Maatamri.W, Regaieg.H, Braham.A, Sendi.H, Ben Youssef.Y, Braham Jmili.N et al. Caractéristiques clinico-biologiques et thérapeutiques des leucémies aiguës promyélocyaires: à propos de 43 cas. *Rev Tun Biol Clin*, 2021; 28(02): 50-60
- Tarlock, K, Meshinchi S. Pediatric acute myeloid leukemia: biology and therapeutic implications of genomic variants. *Pediatr Clin North Am* (2015). 62(1), 75–93.
- Tripon F, Crauciuc GA, Bogliş A, Moldovan V, Sándor-Kéri J, Benedek IJ, et al. Co-occurrence of PML-RARA gene fusion, chromosome 8 trisomy, and FLT3 ITD mutation in a young female patient with de novo acute myeloid leukemia and early death: A CARE case report. *Medicine* 2020; 99(14): e19730
- Yang JJ, Park TS, Wan TS. Recurrent Cytogenetic Abnormalities in Acute Myeloid Leukemia. *Methods Mol Biol*. 2017; 1541: 223-45
- Narayanan D, Weinberg OK. How I investigate acute myeloid leukemia. *Int J Lab Hematol*. 2020; 42(1): 3-15.
- Trabelsi N, Achbar M, Khalfaoui I, El Ayeb Y, Abdennebi Y B, Guermani H, et al. Apport de la Cytogénétique dans les Leucémies Aigues Myéloblastiques (LAM) de l'enfant. *Morphologie*, 2022: 106(354), S20.
- Bacher U, Kern W, Schnittger S, Hiddemann W, Schoch C, Haferlach T. Further correlations of morphology according to FAB and WHO classification to cytogenetics in de novo

- acute myeloid leukemia: a study on 2,235 patients. *Ann Hematol.* 2005; 84(12): 785-91.
26. Luquet I, Bidet A, Cucuini W, Lafage-Pochitaloff M, Mozziconacci MJ, Terré C. Place de la cytogénétique dans la prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes: actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Ann Biol Clin.* 2016 ; 74(5) : 535-46
 27. Koenig KL, Sahasrabudhe KD, Sigmund AM, Bhatnagar B. AML with Myelodysplasia-Related Changes: Development, Challenges, and Treatment Advances. *Genes*, 2020: 11(8), 845.
 28. Menssen AJ, Walter MJ. Genetics of progression from MDS to secondary leukemia. *Blood.* 2020;136(1):50-60.
 29. Honda H, Nagamachi A, Inaba T. -7/7q- syndrome in myeloid-lineage hematopoietic malignancies: attempts to understand this complex disease entity. *Oncogene.* 2015;34(19):2413-25.
 30. Marschalek R. The reciprocal world of MLL fusions: A personal view. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech.* 2020; 1863(7): 194547
 31. Arber DA, Erba HP. Diagnosis and Treatment of Patients With Acute Myeloid Leukemia With Myelodysplasia-Related Changes (AML-MRC). *Am J Clin Pathol.* 2020; 154(6): 731-41.
 32. Sant M, Allemanni C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood* 2010; 116(19): 3724–34.
 33. Döhner K, Paschka P. Intermediate-risk acute myeloid leukemia therapy: current and future. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2014;2014(1):34-43.
 34. Medinger M, Passweg JR. Acute myeloid leukaemia genomics. *Br J Haematol.* 2017 ;179 (4): 530-42.
 35. Khoury J D, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley J F, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*, (2022). 36(7), 1703–1719.