



Article original

PHENOTYPE ABERRANT DES LEUCEMIES AIGUES : EXPERIENCE DE CHU CASABLANCA-MAROC

ABERRANT PHENOTYPE IN ACUTE LEUKEMIA: CASABLANCA-MOROCCO CHU EXPERIENCE

Samiha JADDAOUI^{1,2}, Bouchra OUKKACHE^{1,2}¹ Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, Université Hassan II.² Laboratoire d'Hématologie. Centre Hospitalier Universitaire Ibn Rochd, Casablanca, Maroc.

Auteur correspondant : Samiha JADDAOUI. Email : biosamy.jaddaoui@gmail.com

RESUME :

Introduction : Le phénotype aberrant se manifeste par une sous/surexpression d'antigène, une expression asynchrone des antigènes précoces et tardifs dans les cellules blastiques ou la présence d'une infidélité de lignée. Son incidence dans la leucémie aiguë (LA) est variable, et leur valeur pronostique associée aux différents facteurs pronostics hématologiques et d'autres biologiques chez les patients est encore controversée, en dépit de plusieurs rapports de signification clinique.

Objectifs : Évaluer l'incidence de l'expression des phénotypes aberrants dans les leucémies aiguës et corréler leurs présences avec les différents sous-types de LA, ainsi que les caractéristiques clinico-biologiques de nos patients.

Méthodes : 123 patients de LA de novo ont été diagnostiqués au laboratoire d'hématologie du CHU Ibn Rochd de Casablanca du 1er Janvier au 31 Décembre 2014. Tous les cas ont été analysés selon les critères de l'OMS 2008. L'immunophénotypage a été réalisé par un cytomètre en flux de type BD FACS Calibur à 3 couleurs.

Résultats : Dans notre étude, nous avons noté 62 cas de Leucémie aiguë myéloïde (LAM) soit 50,4%, et 61 cas de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) soit 49,6%. Les antigènes lymphoïdes les plus exprimés, dans les LAM, par ordre de fréquence sont le CD7 (58,8%), CD2 (16,6%), CD5 (14,3%), CD10 (4,8%) et CD19 (3,22%). Tandis que dans les LAL, le CD13 était l'antigène myéloïde le plus exprimé (18%), suivi par le CD117 (9,8%), CD15 (3,3%) et CD33 (1,6%). Ces antigènes myéloïdes étaient plus exprimés dans les LAL de type B. L'expression asynchrone a été révélée dans la grande majorité des cas de LAM (80,6%) avec une différence significative pour CD117 + CD34 + CD15 / CD14. De plus, l'étude a été corrélée avec les sous types de LA et les données clinico-biologiques.

Conclusion : Le phénotype aberrant devrait être étudié pour une meilleure compréhension de leur signification biologique et pour leur intérêt pronostic. En même temps, il pourrait être utile lors de la détection de la maladie résiduelle minimale chez les patients présentant une rémission complète d'après l'examen cyto-morphologique classique.

SUMMARY:

Background: The aberrant phenotype is manifested by antigen under/overexpression, asynchronous expression of early and late antigens in blast cells, or the presence of lineage infidelity. Its incidence in acute leukemia (AL) is variable, and their prognostic value associated with different hematological and other biological prognostic factors in patients is still controversial, despite several reports of clinical significance.

Aims: Evaluate the incidence of aberrant phenotypes expression in acute leukemia and correlate their presence with the different AL subtypes, clinical and biological characteristics in our Morocco patients.

Methods: 123 novo AL patients were diagnosed from January to December 2014 at our laboratory. All cases were analyzed according to the morphologic, cytochemical criteria of the French-American-British (FAB) classification and WHO criteria. Immunophenotyping by Flow cytometric analysis was performed.

Results: The occurrence of MyAg in ALL was higher in adults (29.2%) as compared to children (24.3%) while in AML, LyAg was higher in children (77.8%) as compared to adult (34.6%). However, we could find no statistical significant difference between these aberrant phenotype regarding FAB subtypes or clinical and biological outcomes except the more frequency in children of both CD7 which has been revealed to be the most commonly expressed lymphoid antigen (58.8%) and CD19 expressed in all 3.22% of M2 AML subtype. In our series, CD13 was the most common MyAg expressed (18%) followed by CD117 (9.8%), while the great majority of AML cases showed asynchronous expression (80.6%) with significant difference for CD117+CD34+CD15/CD14 regarding FAB subtypes.

Conclusion: Aberrant phenotypes might be associated with different leukemia subtypes that should be studied for better understanding of their biological significance and adding important information for prognosis and, at the same time, could be of help when looking for minimal residual disease during morphologic remission.

Mots-clés

Phénotype Aberrant - cytométrie en flux - Leucémie aiguë

Key-words

Aberrant phenotype - flow cytometry - Acute Leukemia.

1. INTRODUCTION

La Leucémie aigüe (LA) est un groupe hétérogène des hémopathies malignes caractérisée par l'expansion clonale, dans la moelle osseuse, des cellules myéloïdes ou lymphoïdes immatures [1] avec un changement des caractéristiques cliniques, morphologiques, immunologiques et moléculaires [2]. Son taux de prévalence est estimé à 4 millions de personnes par an dans les pays développés [3]. Bien que la plupart des cellules leucémiques conservent les caractéristiques de leurs homologues normales et s'engagent à l'une des lignées hématopoïétiques, ils montrent souvent l'expression d'antigène de la lignée-non engagée, appelés " expression de l'antigène aberrante " ou " infidélité de la lignée ". Plusieurs possibilités pour expliquer ce phénomène ont été postulées. Cependant, le mécanisme précis est pas encore clair [4]. Certains des phénotypes associés à la leucémie, en dépit d'être considéré comme aberrante, sont documenté dans les cellules de la moelle osseuse normale à un nombre très faible [5]. Le phénotype aberrant peut comprendre l'expression asynchrone des antigènes précoces et tardifs, l'infidélité de la lignée et la sur ou sous expression d'antigène [6].

La fréquence des phénotypes aberrants dans la leucémie aiguë est variable, elle pourrait être aussi élevée que 88% [3]. De plus, sa valeur pronostique et prédictive avec les données clinico-biologiques chez les patients est encore controversée, malgré plusieurs rapports de signification clinique [3].

Dans la leucémie aigüe myéloblastique (LAM), L'incidence des phénotypes aberrants (Ly + LAM) est encore controversée, des résultats divergents ont été trouvés par les différents groupes et jusqu'à 48% des cas ont été rapporté [3]. Ces phénotypes pourraient être associés à différents sous-types de leucémie qui devraient être étudié pour une meilleure compréhension de leur signification biologique. Dans la leucémie aigüe lymphoblastique (LAL), le phénotype aberrant (My + LAL) a été rapporté dans 10-47% des cas [7]. Plusieurs raisons ont été suggérées pour les rapports conflictuels sur l'expression aberrante d'antigènes. Ceux-ci comprennent, l'utilisation d'une grande variété de panels d'anticorps monoclonaux, l'utilisation de différents réactifs contre les antigènes de surface, l'analyse d'échantillon frais ou congelé, et surtout la différence

entre les caractéristiques phénotypiques de cellules blastiques chez des patients enfants et adultes [3].

Actuellement, l'immunophénotypage de blastes leucémiques est devenu un outil de diagnostic extrêmement important permettant la détection des marqueurs spécifiques de la leucémie, la classification de la LAL à la lignée B ou T ainsi que leur stade de maturation, l'identification précise des sous-types indifférenciés de LAM tels que LAM-M0 et LAM-M7 et également la classification des leucémies aiguës biphénotypiques et bilinéaires. Récemment, l'analyse immunophénotypique d'expression d'antigène aberrante utilisant des stratégies de gating de blastes par le CD45faible et la SSCfaible a permis la discrimination efficace des blastes leucémiques présentes à faible fréquence des cellules immatures normales. Par conséquent, il est très utile pour augmenter la sensibilité de la détection de la maladie résiduelle minimale (MRD) dans la LA et d'évaluer la qualité de l'effet du traitement et de pronostic. Dans cette étude, 123 cas de LA ont été analysé par cytométrie en flux afin d'évaluer l'incidence d'expression de phénotype aberrant et de corrélér leur présence avec les différents sous-types de LA, ainsi que les caractéristiques clinico-biologiques de nos patients.

2.METHODOLOGIE

2.1 Patients

Parmi 123 patients LA diagnostiqués du 1er Janvier au 31 Décembre 2014 au laboratoire d'hématologie de CHU Ibn Rochd de Casablanca, 46 patients étaient des enfants (<18 ans; 9 LAM, 25 LAL-B, et 12 LAL-T) et 77 patients étaient des adultes (53 LAM, 11 LAL-B, et 13 LAL-T). Tous les cas ont été analysés selon les critères de l'OMS 2008. Ces cas de LA ont été classés comme suit: M0 (4 cas), M1 (9 cas), M2 (20 cas), M4 (22 cas), M5 (7 cas), LAL B (36 cas), LAL T (25 cas). La leucémie aigue promyélocytaire (M3) a été exclue de notre étude.

2.2 Immunophénotypage

L'immunophénotypage a été réalisée sur des échantillons de moelle osseuse prélevés sur tube contenant di- ou tri-potassique Ethylène Diamine Acide Tetra-acétique (K2/K3-EDTA) comme anticoagulant. Toutefois, l'existence d'un envahissement sanguin peut rendre un échantillon de sang périphérique propre à la caractérisation de la leucémie sans aucun problème dans

l'interprétation de la positivité des marqueurs, et de façon parfois très précieuse lorsque le prélèvement médullaire est difficile.

Le marquage des cellules blastiques a été effectué à l'aide d'un panel d'anticorps monoclonaux conjugués à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC*), la phycoérythrine (PE*) et la péricidine-chlorophylle-cyanine 5,5 (PerCP Cy5.5*). Les anticorps conjugués suivants de Becton Dickinson (BD) Biosciences USA, ont été utilisés: le CD2-FITC, CD3-PE, CD4-PE, CD5-PE, CD7-PE, CD8-PE (marqueurs de la lignée des cellules T), CD10-PE, CD19-PerCP Cy5.5, CD20-FITC, CD22-PE, IgM-PE (marqueurs de la lignée de cellules B), CD13-PE, CD33-FITC, cyt MPO- PE, CD15-FITC, CD117-PE (marqueurs de la lignée myéloïde) CD14-FITC , CD64-PE (marqueurs spécifiques de cellules monocytaires), HLA DR-FITC, CD34-PE, TdT-FITC (marqueur de cellules immatures). Des anticorps isotypiques ont été servis comme contrôle. Les échantillons ont été traités par la méthode d'immunofluorescence directe selon le protocole du fabricant (BD Biosciences, USA). En bref, le sang total (100 µl contenant 2.106 cellules) a été incubé à l'obscurité, à température ambiante, pendant 30 minutes avec les anticorps monoclonaux à des concentrations de saturation (20 µl) puis lysé pendant 10 min avec 2 ml d'une solution de BD FACS Lysing et lavé deux fois avec un tampon phosphate salin (PBS, pH 7,4). Le marquage des antigènes intra-cytoplasmique le CD3, CD22 et la myéloperoxydase (MPO), ainsi que la désoxynucléotidyl transférase terminale (TdT), a été évalués par des anticorps monoclonaux conjugués fluorescents après fixation et perméabilisation des cellules (BD FACS Permeab 2). Les cellules marquées ont été remises en suspension dans 0,5 ml de PBS et analysées par cytométrie en flux à trois couleurs BD FACS Calibur (Becton Dickinson Immunocytometry Systems) calibré par des billes standardisés (BD Calibrate 3 Beads). Le logiciel Cell Quest Pro a été utilisé pour l'acquisition et l'analyse des données et les cellules blastiques ont été distingué à l'aide du scattergramme CD45/SSC.

L'expression de l'antigène a été considéré positif lorsqu'il est présent dans 20% ou plus de cellules blastiques, pour les antigènes de surface, et 10% en intra-cytoplasmique.

Le diagnostic de la LA a été évoqué en se référant, pour chaque antigène, au score établi par le groupe européen de la caractérisation immunologique des leucémies (EGIL), ce qui nous a permis d'attribuer pour chaque lignée une valeur supérieure à deux points.

2.3 Analyse statistique

Les analyses ont été effectuées en utilisant le logiciel d'analyse statistique SPSS 21.0. Des différences significatives entre le phénotype aberrant, les sous-types LA et les caractéristiques biologiques ont été analysées par le test χ^2 , une valeur de $p < 0,05$ était considérée comme significative.

3. RÉSULTATS

123 cas de LA ont été diagnostiqués ; 63% était des adultes (≥ 18 ans), l'âge médian était de 28 ans [J 7- 84 ans], avec une médiane de 38 ans [J7 - 68 ans] pour LAM et 12 [0.5 - 84 ans] pour LAL. LA est plus fréquente chez les hommes que les femmes; le sexe ratio Homme/Femme était de 1,56 avec 1,58 pour LAM et 1,77 pour LAL. Leurs caractéristiques clinico-biologiques sont présentés dans le tableau I.

Tableau I. Les caractéristiques de base des 123 patients.

Caractéristiques	Intervalle	N
Caractéristiques hématologiques		
Hémoglobine (g/dl)	1 à 7	44
	7 à 12	79
	>12	0
Taux de plaquettes ($10^9/l$)	< 10 000	11
	[10 000 - 20 000[0
	[20 000 - 150 000[112
Taux de leucocytes ($10^9/l$)	< 4 000	23
	[4 000 - 10 000[8
	[10 000 - 100 000]	60
	>100 000	32
% de blastes périphériques	< 5	6
	5 à 100	117
Données immunophénotypiques		
LAM		62
LAL-B		36
LAL-T		25

3.1. Résultats LAM

Les antigènes myéloïdes les plus fréquemment exprimés dans les LAM étaient la MPOC et le CD13 à (87,1%), CD15 (69.35%), CD33 (56.45%), ainsi que les antigènes de surface de cellules souches, y compris HLA-DR (91,9%), CD117 (87,1%) et CD34 (74,2%).

Trente-deux (51,6%) parmi 62 patients ont montré une co-expression des antigènes lymphoïdes dans les cellules leucémiques myéloïdes. Notamment, dans les sous types M2 15/62 (24,2%) et M4 13/62 (21%). Cependant, M0 et M5 n'ont pas exprimé ce phénotype aberrant.

Intéressamment, plus d'un de ces aberrations phénotypiques ont pu être détectées dans 17,7% des cas ; en particulier, la co-expression des marqueurs T, dans les sous types de LAM M2 et M4 dans 10/62 (16,13%) des cas, dont l'un d'entre eux en combinaison avec les marqueurs B et T (tableau II).

L'antigène lymphoïde le plus fréquent était CD7 dans 20/34 (58,8%) des cas, suivi par CD2 dans 4/24 (16,6%), CD5 dans 1/7 (14,3%), CD10 dans 3/62 (4,8%), CD19 dans 2/62 (3,22%) et CD4 dans 1/48 (2,08%).

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre LAM Ly+ et Ly- concernant les différents sous-types de LAM.

L'expression Asynchrone était l'aberration la plus fréquente, présentant dans 80,6% (25/31) des cas étudiés (tableau III). Les antigènes tardifs ont été plus fréquemment observés en association avec le phénotype CD117 + CD34 + (22/31), en particulier dans les sous-types de LAM M4 12/31 (38,71%) et M2 6/31 (19,3%). Le CD15 a été fréquemment co-exprimé avec le phénotype CD117 + CD34 + (51,6%), puis avec CD117 + CD34 - (12,9%) ou CD117- CD34 + (3,2%). Cependant, l'absence d'expression de l'HLADR avec les marqueurs CD34 et CD117 a été notée dans deux cas de LAM non promyélocytaire (tableau III).

En comparant l'expression asynchrone des antigènes sur les cellules myéloïdes avec les sous-types de LAM, une différence statistiquement significative a été notée uniquement dans la co-expression des antigènes CD117 + CD34 + CD15 + ($p = 0,027$) et CD117 + CD34 + CD14 + ($p = 0,018$).

La corrélation des antigènes aberrants avec l'âge a montré que l'expression des marqueurs lymphoïdes dans les LAM chez les enfants est plus fréquente (77,8%) que les adultes (34,6%), alors que ceux-ci présentent plus l'expression asynchrone. Bien qu'il n'y ait pas de différence significative concernant l'âge des

patients à l'exception des antigènes CD7 ($p = 0,04$) et CD19 ($p = 0,02$).

Tableau II. Fréquence des marqueurs lymphoïdes dans les différents sous types de LAM.

	Marqueurs B					Marqueur T					N	>1
	CD10	CD19	CD20	CD22	cCD79a	CD2	CD3	CD4	CD5	CD7	CD8	LyAg
M0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	0	4
M2	2	2	0	0	0	2	0	1	0	8	0	15
M4	1	0	0	1	0	1	0	9	1	9	0	22
M5	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2

Tableau III. Nombre d'expression asynchrone et leur corrélation avec les types de LAM.

	M0	M1	M2	M4	M5	TOTAL
Phénotype aberrant	(n= 4)	(n= 5)	(n= 8)	(n= 9)	(n= 5)	(n= 31)
	(%)					
CD117+ CD34+ CD15+	1	2	6	7	0	16 (51,6)
CD117+ CD34+ CD14+	1	0	0	5	0	6 (19,3)
CD117- CD34+ CD15+	0	0	0	0	1	1 (3,2)
CD117+ CD34- CD15+	0	2	0	1	1	4 (12,9)
CD117- CD34+ CD14+	0	0	0	0	0	0 (0)
CD117+ CD34- CD14+	0	0	0	0	0	0 (0)
CD117+ CD34+ HLADR-	1	1	0	0	0	2 (6,4)
N	3	5	6	13	2	25 (80,6)

* n = nombre de cas

La corrélation du sexe de patient et les caractéristiques hématologiques telles que le nombre de leucocytes, le taux de plaquettes, le pourcentage de blastes périphériques et le taux d'hémoglobine, avec le phénotype aberrant des LAM a montré aucune différence statistiquement significative sauf pour le nombre de leucocytes dépassant 100 000 / μ l ($p = 0,03$) et le nombre de plaquettes moins de 10 000 / μ l dans CD5 ($p = 0,03$). Cependant, le petit nombre

d'échantillons (1/7) a exclu cette signification (tableau IV).

Tableau IV. Aberrant phénotype dans 62 cas de LAM et leur corrélation avec les caractéristiques cliniques.

Phénotype Aberrant	Age * (années)	Sexe (Femme/ Homme)	Taux de leucocytes* (103/ μ L)	Blastes périphériques* (%)	Taux d'hémoglobine * (g/dL)	Taux de plaquette* (μ L)
CD7						
(+)	34 +/- 17	0.33	71 +/- 105	66 +/- 26	6 +/- 1.6	63 +/- 43
(-)	48 +/- 15	0.66	51 +/- 58	67 +/- 29	9 +/- 3	55 +/- 47
CD2						
(+)	40 +/- 23	3	43 +/- 23	68 +/- 35	8 +/- 3	92 +/- 59
(-)	39 +/- 17	0.43	54 +/- 69	68 +/- 21	9 +/- 2	47 +/- 34
CD5						
(+)	1	0	122	80	8.8	6
(-)	34 +/- 15	1	31 +/- 27	73 +/- 19	10 +/- 1	57 +/- 34
CD19						
(+)	22 +/- 10	0	52 +/- 33	95 +/- 0.7	7 +/- 2	52 +/- 11
(-)	37 +/- 16	0.66	55 +/- 74	63 +/- 28	8 +/- 2	60 +/- 46
CD10						
(+)	44 +/- 6	0	10 +/- 9	42 +/- 8	7 +/- 2	66 +/- 60
(-)	36 +/- 17	0.68	57 +/- 74	65 +/- 29	9 +/- 2	60 +/- 45
CD117⁺ CD15⁺						
(+)	35 +/- 14	0.59	57 +/- 81	65 +/- 25	8 +/- 2	65 +/- 48
(-)	39 +/- 19	0.69	52 +/- 64	63 +/- 33	9 +/- 2	54 +/- 43
CD117⁺ CD14⁺						
(+)	33 +/- 15	1.25	87 +/- 133	55 +/- 29	9 +/- 0.6	75 +/- 32
(-)	37 +/- 17	0.56	49 +/- 59	66 +/- 29	8 +/- 2	57 +/- 48
CD117⁺ CD34⁺ HLADR⁺						
(+)	36 +/- 13	1	15 +/- 6	78 +/- 26	11 +/- 2	52 +/- 39
(-)	34 +/- 15	0.62	52 +/- 55	61 +/- 31	8 +/- 2	63 +/- 51

* (Moyenne +/- Ecart type)

3.2. Résultats de LAL

Les marqueurs de la lignée lymphoïde B les plus fréquemment exprimés étaient CD22 (93,3%) et CD19 (91,6%). Tandis que, le CD3 (96%) était l'antigène spécifique le plus exprimé dans la lignée lymphoïde T, ainsi que les antigènes de surface des progéniteurs, dans les deux types de LAL B et T, y compris CD34 (48%), TdT (89,6%) et HLA DR (94,4%) exprimée uniquement dans la lignée B.

Les antigènes aberrants ont été exprimés dans 16/61 (26,2%) des cas, incluant des antigènes myéloïdes (MyAg) exprimée dans 5/25 (20%) des cas de LAL-T, et les MyAg 7/36 (19,4%) et T-LyAg 3/36 (8,3%) ont été exprimées dans 11/36 (30,5%) des cas de LAL-B.

Plus qu'un antigène aberrant ont été exprimé dans les LAL 6/61 (9,8%); un cas a montré trois antigènes

aberrants, trois cas avec deux MyAg, et les autres cas, ont révélé 2 LyAg-T ou uniquement un antigène aberrant soit myéloïde ou lymphoïde T dans les LAL-B.

L'antigène myéloïde le plus fréquemment exprimé était le CD13 présent dans 11/61 (18%) des cas de LAL, suivis par le CD117 dans 6/61 (9,8%). Cependant, le CD15 a été exprimé dans deux cas (3,3%) et le CD33 dans un seul cas (1,6 %). D'ailleurs, le CD7 a été co-exprimé en combinaison avec les MyAg dans deux cas de LAL-B (tableau V).

Tableau V. Fréquence des marqueurs aberrants dans les cas de LAL.

Expression de marqueurs aberrants	LAL B	LAL T
CD117	0	2
CD13	6	0
CD33	1	0
CD15	1	1
CD13+CD117	1	2
CD13+CD117+CD7	1	
CD13+CD7	1	
CD2+CD8	1	

Sur la base de la positivité d'au moins un marqueur myéloïde (CD13, CD117, CD33 et CD15), nous avons stratifié les patients en deux groupes: MyAg + et MyAg - en fonction de leurs caractéristiques biologiques (tableau VI). Aucune différence significative n'a été trouvée pour ces deux phénotypes. Cependant, les patients les plus âgés ont présenté fréquemment des antigènes myéloïdes aberrants par rapport aux enfants (respectivement 29,2% (7/24) et 24,3% (9/37); $p = 0,4$). En outre, le phénotype MyAg + était plus exprimé chez les femmes que chez les hommes (33,3% (8/24) vs 27% (10/37); $p = 0,4$).

Le nombre de globules blancs et le nombre de blastes périphériques ont diminué dans le phénotype MyAg + ($p = 0,9$). Cependant, leur taux d'hémoglobine (≥ 10 g / dL), ($p = 0,1$), et de plaquette ($\geq 10\ 000$ / μ L), ($p = 0,4$) étaient plus élevés.

Les antigènes myéloïdes aberrants étaient plus fréquemment associés à la lignée B (30,5%) que T (20%) de LAL; ($p = 0,3$).

Tableau VI. Distribution de l'expression des MyAg en fonction des caractéristiques biologiques dans 61 cas de LAL.

Facteurs	MyAg+	MyAg-
Age (années) *	16 +/- 15	20 +/- 19
Sexe (Homme/Femme)	0,81	1,1
Taux de leucocytes (10 ³ /μL) *	93 +/- 135	126 +/- 161
Blastes périphériques (%) *	67 +/- 36	78 +/- 24
Taux d'hémoglobine (g/dL) *	8 +/- 5	7 +/- 3
Taux de plaquettes (10 ³ /μL) *	62 +/- 65	65 +/- 59
LAL-B/LAL-T	2,2	1,25

* (Moyenne +/- Ecart-type)

4. DISCUSSION

L'association du phénotype aberrant avec des facteurs pronostiques défavorables et leur fréquence est encore controversée dans les LAM ainsi que les LAL [7]. Dans notre étude, la fréquence des marqueurs de la lignée lymphoïdes dans les cas de LAM était de 51,6%. Ce pourcentage était plus proche de celui publié récemment (67,5%) [8]. Cependant, ces fréquences sont plus élevées que celles rapportées par les études antérieures 23,9% [9] et 34,3% [5]. Par ailleurs, l'expression asynchrone des antigènes était l'aberration la plus fréquente chez les patients LAM, bien que la valeur de différents types de ces expressions asynchrones n'est pas encore bien définie.

Dans les cas de LAL, la fréquence d'expression des antigènes myéloïdes était de 24,6%. Nos résultats sont conformes à 21,2 % rapporté précédemment [10].

La fréquence plus élevée du phénotype aberrant par rapport aux études antérieures peut être liée à des changements environnementaux et l'accumulation de anomalies biologiques, ainsi que la largeur du panel utilisés pour le diagnostic de LA. L'intérêt majeur de l'élévation de la fréquence de ces phénotypes réside dans l'évaluation de la maladie résiduelle minimale et le suivi de nos patients, malgré qu'elle n'est pas encore bien établie dans la LAM.

Les antigènes lymphoïdes les plus fréquemment exprimées étaient successivement ; CD7, une molécule d'activation et d'adhésion, exprimé par les cellules T, les cellules NK et les cellules souches hématopoïétiques [11]. Les sous types de LAM, en particulier ceux avec une différenciation monocyttaire ou mégacaryocytaire

peuvent exprimer le CD7 et L'OMS a affirmé que le CD7 peut être fréquemment exprimée dans les LAM, mais à faible intensité [12]. Dans notre étude, le CD7 est exprimé dans 58,8% des cas de LAM. Ces résultats sont cohérents avec d'autres recherches [3,13]. Dans cette étude, le CD7 était présent dans les sous types de LAM M4 (45%) et M2 (40%), contrairement à Bhushan B et al. (2010) qui a noté que le CD7 avait une incidence élevée dans la LAM M5.

Saxena et al., (1998) a conclu que l'expression de CD7 dans les LAM est associée à des antigènes immatures qui sont le CD34, HLA DR, et le terminal transférase désoxy-nucléotidyl (TdT). Par conséquent, ils ont rapporté également que les LAM avec CD7 pourraient provenir de précurseurs hématopoïétiques précoces ce qui indique l'agressivité biologique dans une proportion significative de patients. Ceci explique le fait que son expression dans les LAM pourrait être associée à une diminution du taux de rémission complète [15].

Dans notre étude, le CD7 était un marqueur aberrant, significativement, plus fréquemment exprimé chez les enfants que les adultes.

CD2 est exprimé par les cellules T et les cellules NK [11], et l'un des premiers antigènes qui précède le CD1, mais apparaît après le CD7 sur les lymphocytes T [13]. Selon l'OMS, le CD2 peut être fréquemment exprimée à faible intensité chez les patients LAM [14].

Dans une étude réalisée par Robert E et al., (2007), le CD2 était positif dans 16,7% des cas de LAM. De même, dans notre étude, le CD2 a été exprimée dans 16,6% des cas.

CD3, un marqueur pan des cellules T, est impliqué dans la transduction du signal et dans l'assemblage du récepteur complexe des cellules T [11]. Dans une étude réalisée par Robert E et al., (2007), le CD3 a été positif dans 10% des patients atteints de LAM. Dans cette investigation, le CD3 était absent dans les cas de LAM. Ces données correspondent à l'immunophénotypage usuel de l'OMS pour les LAM.

CD5 est une molécule de co-stimulation présente sur les cellules T et B, et un régulateur clé de la tolérance immunitaire [11]. Dans une recherche menée par Robert E et al. (2007), le CD5 a été exprimé dans 16,7% des cas de LAM. Dans cette étude, le CD5 était positif dans 14,3% des cas. Ces données indiquent que le CD5 peut

être exprimé de manière aberrante par les cellules myéloïdes dans la LAM.

CD8, exprimé par les lymphocytes T, est un co-récepteur des molécules du CMH de classe I [11]. Dans une investigation menée par Robert E et al. (2007), le CD8 a été exprimé dans 10% des cas de LAM. Cependant, dans notre étude, le CD8 était absent dans les cas de LAM. Ces données suggèrent que CD8 peut être exprimé très rarement de manière aberrante dans des cas de LAM.

CD4, exprimé par les lymphocytes T, est un co-récepteur des molécules du CMH de classe II [11] et un marqueur de différenciation dans les LAM monocytaires [8], Donc il n'a pas été considéré comme un phénotype aberrant dans les LAM M4 et M5. En excluant ces sous-types, le CD4 a été exprimé comme antigène aberrant dans 2,08% (1/48) des cas par rapport à 12,5% dans l'étude de Bahgat Abdulateef et al. (2014).

CD79a et CD20 sont exprimés par les cellules B; leurs expressions étaient négatives dans les cas de LAM. D'autre part, le CD22, inclus même dans le système de score établi par EGIL, a été exprimé dans un cas de LAM M4 (1,61%) contrairement au pourcentage élevé rapporté récemment à 7,5% par Bahgat Abdulateef et al. (2014).

CD19 est un marqueur pan de cellules B. Cependant, il est parfois exprimé chez les patients atteints de LAM [11]. Le CD19 a été exprimé dans l'ensemble des 3,22% de sous-type de LAM M2. Cette association est bien documentée dans la littérature, et peut être associée à la translocation t(8;21) avec le réarrangement du gène AML1 / ETO [16]. Les études présentées par Belurkar et al. (2013) a montré qu'il n'a pas de pronostic significatif. Cependant, d'autres chercheurs ont rapporté une prévalence plus élevée allant jusqu'à 29,4%, qui a été distribuée entre les différents sous-types de LAM [18]. Dans ce travail, ce marqueur a été exclusivement exprimé chez les enfants.

CD10, également connu comme antigène commun de leucémie aiguë lymphoblastique (CALLA) [11], il a été révélé dans 4,8% des cas de LAM M2 et M4.

Dans l'ensemble, certaines études ont rapporté que le phénotype Ly + LAM était associé au mauvais pronostic alors que d'autres études ont le rapporté être associé soit à un pronostic favorable ou être sans valeur pronostique.

[7]. Dans notre étude, nous avons trouvé aucune association significative entre le phénotype aberrant et les sous types de LAM, à l'exception de la co-expression asynchrone de CD117 + CD34 + CD15 ou CD14. En outre, comme indiqué par by Bhushan B. et al., 2010, nous avons trouvé aucune différence significative dans les caractéristiques cliniques et hématologiques de ces aberrations phénotypes de LAM. Malgré le fait que, Ly + AML était plus fréquente chez les enfants (77,8%) que les adultes (34,6%) comme indiqué dans la plupart des études [7 ; 19].

Dans les groupes de LAL, le CD13 était l'antigène le plus communément exprimé (18%), suivi par le CD117 (9,8%), contrairement à d'autres qui ont démontré que le CD33 et le CD13 étaient les antigènes les plus exprimés, respectivement, dans 21,2% et 15,1% des cas [8].

CD13 est une aminopeptidase liant le zinc exprimé à la surface d'environ 40% de précurseurs myéloïdes, des cellules granulocytaires / monocytaires matures et des basophiles [11]. Son expression a été associée à une très courte durée de récurrence-survie, la survie globale, et la survie de 4 ans. Cette association a été observée au seuil conventionnel de positivité ($\geq 20\%$ de blastes) ainsi qu'à un seuil inférieur ($\geq 5\%$) [20].

Le récepteur c-kit (CD117), est un récepteur tyrosine kinase transmembranaire qui joue un rôle important dans l'hématopoïèse [20]. Alors que la molécule CD117 semblait être un marqueur plus spécifique pour la leucémie myéloïde, étant démontrée sur $\geq 20\%$ de blastes dans 87% (54/62) des cas de LAM, mais rarement détecté dans les LAL (9,8%, 6/61 cas). Il a été montré que l'expression CD117 était plus fréquente chez les LAL-T (4/61) que les LAL-B (2/61).

CD15 et CD33 en tant que des antigènes myéloïdes et de différenciation monocytaires, peuvent être exprimés de manière aberrante dans le néoplasie des cellules B [21]. Ils ont été trouvés dans une proportion relativement faible de LAL (respectivement 3,3% et 1,6%). Il est intéressant de noter que l'expression de CD33 n'a été trouvée que chez un enfant atteint de LAL-B, ceci a été rapporté également dans une étude réalisée par Bhushan B. et al., (2010) mais à une fréquence plus élevée.

Les marqueurs T (CD7, 2 et 8) ont également été exprimés dans 8,3% des cas de LAL-B étudiés,

comparables à 9% des cas rapportés par Seegmiller et al. (2009).

L'expression des antigènes myéloïdes CD13, CD33 ou CD117 a été associée à un taux de rémission complète et de survie diminué par certains chercheurs [19].

Dans notre étude, nous n'avons pas trouvé une différence significative entre l'expression des phénotypes MyAg + et MyAg – et les données clinico-biologiques, bien que la présence des antigènes myéloïdes dans les LAL était plus fréquente chez les adultes (29,2%) que les enfants (24,3%).

CONCLUSION

En conclusion, les leucémies aiguës pourraient être guéries à tout âge chez les patients par des thérapies ciblées. Pour cela, les corrélations immunophénotypiques aberrantes avec des caractéristiques clinico-biologiques nécessitent encore des études plus approfondies afin de tirer profit de ces données dans la clinique qu'elle soit thérapeutique par l'utilisation d'anticorps monoclonaux, ou par l'identification des facteurs pronostiques qui permettent la stratification thérapeutique, et d'évaluer ces traitements par la détection de la maladie résiduelle minimale qui semble être un facteur de risque indépendant de la récurrence.

Contribution des auteurs

Cette étude a été rédigée par Jaddaoui S et corrigé par Oukkache B.

Conflits d'intérêts

Les auteurs n'ont signalé aucun conflit d'intérêt potentiel.

REFERENCES

- [1]. Siemons W, Petyt G, Berton C, Morschhauser F, Moraux A, Cotten A. Neoplasies lymphoïdes et myéloïdes. Imagerie musculosquelettique - Pathologies générales, 2e édition. 2013; 649 : 649-677.
- [2]. Dalia A, Salem Sherin M. A. Flowcytometric Immunophenotypic Profile of Acute Leukemia: Mansoura Experience. Indian J Hematol Blood Transfusion. 2012; 28(2):89–96.
- [3]. Jahedi M, Shamsasenjan K, Sanaat Z, Aliparasti M, Almasi S, Mohamadian M, et al. Aberrant Phenotype in Iranian Patients with Acute Myeloid

Leukemia. Advanced Pharmaceutical Bulletin. 2014; 4(1): 43-47.

- [4]. Kiyokawa N, Iijima K, Tomita O, Hasegawa M, Kobayashi K, Okita H, et al. Significance of CD66c expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. Leukemia Research. 2014; (38): 42– 48.
- [5]. Bahia D, Yamamoto M, Chauffaille M, Kimura E, Bordin J, Filgueira M, et al. Aberrant phenotypes in acute myeloid leukemia: a high frequency and clinical significance. haematologica, 2001; 86: 801-806.
- [6]. Christopher S. Hourigan and Judith E. Karp. Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. Nat Rev Clin Oncol. 2013; 10(8): 460–471.
- [7]. Bhushan B, Chauhan P, Saluja S, Verma S, Mishra A, Siddiqui S, et al. Aberrant phenotypes in childhood and adult acute leukemia and its association with adverse prognostic factors and clinical outcome. Clin Exp Med. 2010; 10:33–40.
- [8]. Bahgat Abdulateef N, Ismail M, Aljedani H. Clinical Significance of Co-expression of Aberrant Antigens in Acute Leukemia: A Retrospective Cohort Study in Makah Al Mukaramah, Saudi Arabia. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2014; Vol 15(1): 221-227.
- [9]. Xu B, Hu C, Miao X. Immunophenotyping of 106 adult patients with acute leukemia by flow cytometry (abstract). China. 2003; 23: 1043-6.
- [10]. Paietta E, Neuberg D, Richards S. Rare adult acute lymphocytic leukemia with CD56 expression in the ECOG experience shows unexpected phenotypic and genotypic heterogeneity. Am J Hematol. 2001; 66: 189-96.
- [11]. Cruse J, Lewis, R.E, Wang, H. Immunology Guidebook. Elsevier, San Diego. 2004; (3):47-124.
- [12]. Jaffe, E.S., Harris N.L., Stein H., Vardiman J.W. World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Ann Oncol. 2002; 13 (3): 490-491.
- [13]. Lewis RE, Cruse JM, Sanders CM, Webb RN, Suggs JL. Aberrant expression of T-cell markers in acute myeloid leukemia. Experimental and Molecular Pathology. USA. 2007; 83 (3): 462–3.
- [14]. Saxena, A, Sheridan D.P, Card R.T, McPeck, A.M, Mewdell, CC, Skinnider L.F. Biologic and

clinical significance of CD7 expression in acute myeloid leukemia. Am. J. Hematol. Canada. (1998); 58 (4): 278–284.

- [15]. Cruse JM, Lewis RE, Pierce S, Lam J, Tadros Y. Aberrant expression of CD7, CD56, and CD79a antigens in acute myeloid leukemias. Experimental and Molecular Pathology. USA. 2005; 79 (1): 39–41.
- [16]. Jouault H. Place de la cytométrie en flux pour le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. Rev Fr Lab. 2002; 2002 (344): 25-30.
- [17]. Belurkar S, Mantravadi H, Manohar C, Kurien A. Correlation of morphologic and cytochemical diagnosis with flow cytometric analysis in acute leukemia. Journal of Cancer Research and Therapeutics. India. 2013; 9 (1): 71-9.
- [18]. El-Sissy AH, El-Mashari MA, Bassuni WY, El-Swaayed AF. Aberrant lymphoid antigen expression in acute myeloid leukemia in Saudi Arabia. J Egypt Natl Cancer Inst. 2006; 18(3):244–249.
- [19]. Dalal BI, Al Mugairi A, Pi S, Lee SY, Khare NS, Pal J et al. Aberrant Expression of CD13 Identifies a Subgroup of Standard-Risk Adult Acute Lymphoblastic Leukemia With Inferior Survival. Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia. Canada. 2014; 14 (3): 239-44.
- [20]. Uçkan D, Hiçsönmez G, Yetgin S, Gürgey A, Cetin M, Karaağaoğlu E et al. CD34/CD117 co-expression in childhood acute leukemia. Leukemia Research. Turkey. 2000 ; 24(3):201-6.
- [21]. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. Rev. Blood. USA. 2008; 111 (8): 3941-67.
- [22]. Seegmiller AC, Kroft SH, Karandikar NJ, McKenna RW. Characterization of Immunophenotypic Aberrancies in 200 Cases of B Acute Lymphoblastic Leukemia. Am J Clin Pathol. USA. 2009; 132 (6): 940-9.