

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE 2011

THESE N°

PRISE EN COMPTE PAR LE LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE DES
CRITERES DIAGNOSTIQUES DES HEMOPATHIES MYELOÏDES SELON
LA CLASSIFICATION OMS 2008 : STRATEGIES DE PRISE EN CHARGE ET
ETUDE DE L'IMPACT SUR LA CLASSIFICATION DES LEUCEMIES AIGUËS
MYELOÏDES

MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE BIOLOGIE MEDICALE
TENANT LIEU DE THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN
PHARMACIE

Présenté et soutenu publiquement

Le 15 novembre 2011

Par

Vincent SAINT MARTIN

Né le 22 septembre 1983, à Villecresnes (94)

EXAMINATEURS DE LA THESE

M. le Professeur Jean-Luc DUROUX Président
M. le Professeur Éric DELABESSE Juge
M. le Professeur Gilles DREYFUSS Juge
M. le Professeur Jean FEUILLARD Juge
M. le Docteur Franck TRIMOREAU Membre invité, Directeur de thèse



DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur Jean-Luc **DUROUX**
1^{er} VICE-DOYEN : Madame Catherine **FAGNERE**, Maître de Conférences
2^{ème} VICE-DOYEN : Monsieur Serge **BATTU**, Maître de Conférences

PROFESSEURS :

| | |
|-----------------------------|---|
| BENEYTOUT Jean-Louis | BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE |
| BOTINEAU Michel | BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE |
| BROSSARD Claude | PHARMACOTECHNIE |
| BUXERAUD Jacques | CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE |
| CARDOT Philippe | CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE |
| CHULIA Albert | PHARMACOGNOSIE |
| CHULIA Dominique | PHARMACOTECHNIE |
| DELAGE Christiane | CHIMIE GENERALE ET MINERALE |
| DESMOULIERE Alexis | PHYSIOLOGIE |
| DREYFUSS Gilles | MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE |
| DUROUX Jean-Luc | BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE |
| LOUDART Nicole | PHARMACOLOGIE |

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

| | |
|-------------------------|---|
| LACHATRE Gérard | TOXICOLOGIE |
| MOESCH Christian | HYGIENE HYDROLOGIE ENVIRONNEMENT |
| ROGEZ Sylvie | MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE |

MAITRES DE CONFERENCES :

| | |
|-----------------------------|-----------------------------------|
| BASLY Jean-Philippe | CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE |
| BATTU Serge | CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE |
| BEAUBRUN-GIRY Karine | PHARMACOTECHNIE |

| | |
|---------------------------------|---|
| BILLET Fabrice | PHYSIOLOGIE |
| CALLISTE Claude | BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE |
| CLEDAT Dominique | CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE |
| COMBY Francis | CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE |
| COURTIOUX Bertrand | PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE |
| DELEBASSEE Sylvie | MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE |
| DEMIOT Claire-Elise | PHARMACOLOGIE |
| FAGNERE Catherine | CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE |
| FROISSARD Didier | BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE |
| JAMBUT Anne-Catherine | CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE |
| LABROUSSE Pascal | BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE |
| LEGER David | BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE |
| LIAGRE Bertrand | BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE |
| LOTFI Hayat | TOXICOLOGIE |
| MARION-THORE Sandrine | CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE |
| MARRE-FOURNIER Françoise | BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE |
| MILLOT Marion | PHARMACOGNOSIE |
| MOREAU Jeanne | MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE |
| POUGET Christelle | CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE |
| ROUSSEAU Annick | BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE |
| SIMON Alain | CHIMIE GENERALE ET MINERALE |
| TROUILLAS Patrick | BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE |
| VIANA Marylène | PHARMACOTECHNIE |
| VIGNOLES Philippe | BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE |

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

| | |
|---------------------------------|-----------------------------------|
| DREYFUSS Marie-Françoise | CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE |
|---------------------------------|-----------------------------------|

PROFESSEUR CERTIFIE :

| | |
|-----------------------------|---------|
| MARBOUTY Jean-Michel | ANGLAIS |
|-----------------------------|---------|

REMERCIEMENTS

A Jean-Luc DUROUX, Doyen de la faculté de Pharmacie de Limoges, de me faire l'honneur de présider ce jury.

A Monsieur Franck TRIMOREAU, directeur de thèse, d'avoir accepté de diriger ce travail, me faisant ainsi bénéficier de sa compétence et de son expérience si précieuses. Je tiens à t'exprimer ma plus sincère reconnaissance pour ta disponibilité, tes conseils avisés, ton soutien ainsi que ta gentillesse.

A Monsieur le professeur Eric DELABESSE, du laboratoire d'Hématologie du CHU de Toulouse, d'avoir accepté de juger mon travail, et de me faire l'honneur de participer à ce jury, croyez en mes plus sincères remerciements.

A Monsieur le professeur Gilles DREYFUSS, je suis très sensible à l'honneur que vous me faites en ayant accepté de faire parti de ce jury. Je tiens à vous exprimer mon admiration pour vos qualités professionnelles et humaines.

A Monsieur le professeur Jean FEUILLARD, je garderai d'excellents souvenirs de mes semestres passés dans votre laboratoire. Ces derniers m'ont été très profitables et je vous en suis très reconnaissant. Je vous remercie de bien vouloir juger mon travail.

A l'ensemble des biologistes, techniciens et tous les membres des laboratoires d'Hématologie, de Biochimie et génétique moléculaire, de Bactériologie-Virologie-Hygiène, de Parasitologie-Mycologie et d'Immunologie et Immunogénétique du CHU de Limoges pour votre accueil et votre participation active à ma formation professionnelle.

Aux internes qui m'ont accompagné au cours de ces années : Aurélie, Albertine, François, Marc, Laura, Laurie, Pauline, Ana, Fanny, Sandra, Caroline, Roxana, Nicolas et tous les autres, je garderai un merveilleux souvenir de mon internat avec vous.

A Jean-Philippe, Lydia, Vincenzo et Giovanni pour tous ces moments de joie passés avec vous. Que nos avenir personnels et professionnels soient de grandes réussites !

A tous mes amis, présents et passés qui m'ont accompagné au cours de ma vie.

A mes parents, je profite de cette occasion pour vous dire combien je vous aime et combien je suis fier d'être votre fils. J'essaierai de transmettre les valeurs que vous m'avez inculquées.

A mon frère Charlie, pour tous les moments de notre enfance que nous avons partagés et à mon frère Amaury, je compte sur toi pour réussir tes études. Je serai toujours là pour vous.

A Mamie et Papi, pour votre soutien et votre bienveillance depuis toujours.

A Mamia et papia pour ces merveilleux souvenirs d'enfance.

A Michel, Nathou, Nadia, Laurent, et à mes beaux-parents Alain, Joële, Dorothée, Pedro de m'avoir accueilli dans vos familles respectives.

A tout le reste de la famille, qui s'est toujours soucié de moi.

A toi, Chloé, à qui je dois tant, merci pour tout ce que tu m'apportes, chaque jour passé à tes côtés me remplit de bonheur. Je t'aime.

A toi, mon petit Louis, tu me combles d'amour. Je t'aime.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

SOMMAIRE

ABREVIATIONS

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : CRITERES DIAGNOSTIQUES DE LA CLASSIFICATION OMS 2008 ET REFERENTIELS DES HEMOPATHIES MALIGNES MYELOÏDES

1 PRESENTATION DES HEMOPATHIES MALIGNES MYELOÏDES SELON LA CLASSIFICATION OMS 2008

1.1 Introduction

1.2 Pré-requis de la classification des néoplasies myéloïdes selon les critères OMS 2008

1.3 Référentiels pour l'aide au diagnostic

2 NÉOPLASIES MYÉLOPROLIFÉRATIVES

2.1 Introduction

2.2 Leucémie myéloïde chronique

2.3 Leucémie neutrophile chronique

2.4 Polyglobulie primitive

2.5 Myélofibrose primitive

2.6 Thrombocytémie essentielle

2.7 Leucémie éosinophile chronique, non spécifiée par ailleurs

2.8 Mastocytoses

2.9 Néoplasies myéloprolifératives inclassables

2.10 Démarche diagnostique devant une suspicion de néoplasie myéloproliférative

3 NÉOPLASIES MYELOÏDES ET LYMPHOÏDES AVEC HYPEREOSINOPHILIE ET REARRANGEMENT DE PDGFRA, PDGFRB ET FGFR1

3.1 Introduction

3.2 Néoplasies myéloïdes et lymphoïdes associées au réarrangement PDGFRA

3.3 Néoplasies myéloïdes associées au réarrangement PDGFRB

3.4 Néoplasies myéloïdes et lymphoïdes associées aux anomalies de FGFR1

3.5 Conclusion et synthèse

- 4 NEOPLASIES MYELOYDYSPLASIQUES MYELOPROLIFERATIVES
 - 4.1 Introduction
 - 4.2 Leucémie myélomonocytaire chronique
 - 4.3 Leucémie myéloïde chronique atypique
 - 4.4 Leucémie myélomonocytaire juvénile
 - 4.5 Néoplasie myélodysplasique myéloproliférative inclassable
 - 4.6 Référentiels
 - 4.7 Conclusion et synthèse
- 5 SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES
 - 5.1 Introduction
 - 5.2 Cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée
 - 5.3 Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne
 - 5.4 Cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée
 - 5.5 Anémie réfractaire avec excès de blastes
 - 5.6 Syndrome myélodysplasique avec délétion 5q isolée
 - 5.7 Syndrome myélodysplasique inclassable
 - 5.8 Syndromes myélodysplasiques infantiles
 - 5.9 Référentiels
 - 5.10 Démarche diagnostique d'un syndrome myélodysplasique
- 6 LEUCEMIES AIGUËS MYELOÏDES ET NEOPLASIES APPARENTEES
 - 6.1 Introduction
 - 6.2 Principaux changements par rapport à l'édition 2001
 - 6.3 Leucémies aiguës myéloïdes avec anomalies génétiques récurrentes
 - 6.4 Leucémie aiguë myéloïde associée à des signes de myélodysplasie
 - 6.5 Néoplasies myéloïdes associées aux thérapies
 - 6.6 Leucémies aiguës myéloïdes, non spécifiées par ailleurs
 - 6.7 Sarcome myéloïde
 - 6.8 Proliférations myéloïdes liées au syndrome de Down
 - 6.9 Néoplasie à cellules dendritiques plasmacytoïdes blastiques
 - 6.10 Référentiels
 - 6.11 Conclusion et synthèse

DEUXIEME PARTIE : ETUDE RETROSPECTIVE DES CAS DE LEUCEMIES AIGUËS MYELOÏDES DIAGNOSTIQUEES EN 2008 AU CHU DE LIMOGES

- 1 INTRODUCTION
- 2 MATERIELS

3 METHODES

4 RESULTATS

4.1 Epidémiologie descriptive ; résultats des numérations - formules sanguines

4.2 Blastose médullaire

4.3 Evaluation des examens réalisés

4.4 Evaluation des diagnostics initiaux (OMS 2001)

4.5 Répartition des LAM selon les classifications OMS 2001 et 2008 ; différences de classements

5 DISCUSSION

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLE DES TABLEAUX

TABLE DES PHOTOS

ABBREVIATIONS

| | |
|--------|---|
| ANAES | Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé |
| AR | <i>Anémie réfractaire</i> |
| AREB | <i>Anémie réfractaire avec excès de blastes</i> |
| AREB-F | <i>Anémie réfractaire avec excès de blastes et myélofibrose</i> |
| ARSC | <i>Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne</i> |
| ARSC-T | <i>Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne et thrombocytose</i> |
| ATC | <i>Anatomical Therapeutic Chemical classification system</i> |
| BOM | Biopsie ostéomédullaire |
| CAE | Chloro-acétate estérase |
| CD | <i>Cluster of differentiation</i> |
| CHU | Centre Hospitalier Universitaire |
| CISI | Cytopénies Idiopathiques de Signification Indéterminée |
| CIVD | Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée |
| CMV | Cytomégalovirus |
| CRDM | <i>Cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée</i> |
| EBV | <i>Epstein-Barr virus</i> |
| EN | <i>European normalization</i> |
| EPO | Erythropoïétine |
| FAB | <i>French American British (classification FAB)</i> |
| FISH | <i>Fluorescence In Situ Hybridization</i> |
| G-CSF | <i>Granulocyte- Colony Stimulating Factor</i> |
| GJP | Guide de Juste Prescription |
| GM-CSF | <i>Granulocyte Macrophage - Colony Stimulating Factor</i> |
| HbF | Hémoglobine Fœtale |
| HHV6 | <i>Human Herpes Virus 6</i> |
| HLA-DR | <i>Human Leucocyte Antigen – D related</i> |
| IARC | <i>International Agency for Research on Cancer</i> |

| | |
|---------------|---|
| ICD-O | <i>International Classification of Disease for Oncology</i> |
| IPPS | <i>International Prognostic Scoring System</i> |
| IRSA | Institut Régional pour la Santé |
| ISO | <i>International Organisation for Standardisation</i> |
| LAM | Leucémie aiguë myéloïde |
| LAM-F | <i>Leucémie aiguë myéloïde avec myélofibrose</i> |
| LAM-t | Leucémie aiguë myéloïde associée aux thérapies |
| LDH | Lactate déshydrogénase |
| LEC | Leucémie éosinophile chronique |
| LMC | <i>Leucémie myéloïde chronique</i> |
| LMMC | <i>Leucémie myélomonocytaire chronique</i> |
| LMMJ | <i>Leucémie myélomonocytaire juvénile</i> |
| LNC | <i>Leucémie neutrophile chronique</i> |
| N/C (rapport) | Rapport nucléocytoplasmique |
| MGG | May-Grümwald-Giemsa (coloration) |
| MO | Moelle osseuse |
| MP / MFP | <i>Myélofibrose primitive</i> |
| MPO | Myéloperoxidase |
| NF | Norme française |
| NF1 | Neurofibromatose de type 1 |
| NFS | Numération - formule sanguine |
| NMP | Néoplasie myéloproliférative |
| NMP-I | <i>Néoplasie myéloproliférative inclassable</i> |
| NR | <i>Neutropénie réfractaire</i> |
| NSE | <i>Non-specific esterase</i> |
| OMS | Organisation Mondiale de la Santé |
| PAS | <i>Periodic Acid-Schiff</i> |
| PCR | <i>Polymerase chain reaction</i> |
| PNN | Polynucléaire neutrophile |
| PV | Polyglobulie de Vaquez |
| RC | Rémission cytologique |

| | |
|-----------|--|
| RCP | Réunion de concertation pluridisciplinaire |
| RT-PCR | <i>Reverse transcriptase Polymerase chain reaction</i> |
| RuBIH | Réseau de biologie innovatrice en onco-hématologie |
| Sg | Sang |
| SMD | Syndrome myélodysplasique |
| SMD-I | <i>Syndrome myélodysplasique inclassable</i> |
| SMD-t | Syndrome myélodysplasique associée aux thérapies |
| SMD/NPM | Néoplasie myélodysplasique myéloproliférative |
| SMD/NPM-t | Néoplasie myélodysplasique myéloproliférative associée aux thérapies |
| SBB | <i>Sudan Black B</i> |
| SGL | Système de Gestion du Laboratoire |
| TdT | Terminal-désoxynucléotidyl-Transférase |
| TE | <i>Thrombocytémie essentielle</i> |
| TR | <i>Thrombopénie réfractaire</i> |

INTRODUCTION

La classification OMS 2008 est la référence pour le diagnostic et le classement des hémopathies myéloïdes. Elle a fait l'objet de la publication d'un volume dans la collection *WHO classification of tumours*. Malgré l'intérêt majeur de cette classification, la portée que les auteurs prétendent lui donner est à nuancer sur certains points. En particulier les descriptions cytologiques sont souvent insuffisantes et les critères diagnostiques sont parfois éloignés de la pratique. Un exemple des plus remarquables est le myélome avec la prépondérance donnée à la clinique.

Le caractère exhaustif de l'ouvrage qui lui est consacré, qui n'existe qu'en langue anglaise, le rend tout de même peu pratique au quotidien. De plus, l'anatomopathologie y occupe une place prépondérante et malgré la volonté d'illustrer les entités décrites, les photographies sont majoritairement histologiques. L'ensemble n'est donc pas immédiatement accessible pour le cytologiste. Les descriptions morphologiques sont souvent succinctes et ne correspondent pas toujours parfaitement à la réalité quotidienne.

Les éléments nécessaires au diagnostic obligent à élaborer des dossiers très complets, en particulier pour les leucémies aiguës avec les analyses de cytogénétique, FISH, de biologie moléculaire, la connaissance des antécédents, l'exposition à des facteurs de risque. Ceci peut poser des problèmes de faisabilité. C'est pour cela qu'il est intéressant de confronter ces recommandations « théoriques » de l'OMS à la réalité et aux recommandations récemment publiées telles que celles du Réseau de biologie innovatrice en onco-hématologie (RuBIH).

La première partie est basée sur l'étude du volume publié en 2008 intitulé «*WHO Classification of Tumours of the Haematopoietic and Lymphoid Tissues* » de façon proche au texte original afin de garder le contenu des consensus acquis [1]. L'objectif est de traduire, illustrer, discuter et synthétiser chaque chapitre de cette référence en nous limitant au champ du diagnostic des hémopathies myéloïdes. Pour chaque entité, des illustrations abondantes et didactiques sont axées sur la cytologie sanguine et médullaire (tableaux, photographies, organigrammes). La comparaison avec des référentiels français (Société Française d'Hématologie et les Guides de Juste Prescription du RuBIH) permet d'évaluer la faisabilité et la pertinence des

critères diagnostiques proposés. Enfin, des schémas d'orientation diagnostique proposent une synthèse.

Dans une seconde partie, une étude rétrospective des cas de leucémies aiguës myéloïdes diagnostiquées en 2008 au CHU de Limoges permet de mettre en évidence l'impact de cette nouvelle classification par rapport à l'ancienne (édition 2001) ainsi qu'une auto-évaluation des pratiques du laboratoire vis-à-vis des référentiels.

PREMIERE PARTIE : CRITERES DIAGNOSTIQUES DE LA
CLASSIFICATION OMS 2008 ET REFERENTIELS DES
HEMOPATHIES MALIGNES MYELOÏDES

1 PRESENTATION DES HEMOPATHIES MALIGNES MYELOÏDES SELON LA CLASSIFICATION OMS 2008

1.1 Introduction

La biologie médicale présente un intérêt majeur dans la prise des décisions médicales. Elle peut intervenir à tous les stades d'une pathologie : lors du dépistage, du diagnostic, de l'évaluation du pronostic, de la prise en charge thérapeutique, du suivi médical et thérapeutique, d'éventuelles rechutes. L'Organisation Mondiale de la Santé a l'ambition de créer des consensus sur les maladies (définitions, terminologies, nomenclatures, caractéristiques, critères diagnostiques,...) en établissant une classification internationale. Elle a confié à l'Agence internationale de recherche sur le cancer ou IARC (*International Agency for research on Cancer*) l'objectif d'établir un référentiel des tumeurs hématopoïétiques et des tissus lymphoïdes. La publication de l'édition 2008 de la classification OMS des tumeurs hématopoïétiques et des tissus lymphoïdes a été présentée les 25 et 27 octobre 2007, au siège de l'IARC à Lyon. Elle est communément dénommée par ses utilisateurs « Classification OMS 2008 ». L'intérêt de cette classification « consensus » est d'utiliser un même langage international, afin d'optimiser et d'homogénéiser la prise en charge des patients.

Cette classification des tumeurs hématopoïétiques et des tissus lymphoïdes est un projet de collaboration de l'*European Association for Haematopathology* et de la *Society for Haematopathology*. Elle est donc issue d'un consensus international. Une première édition a été proposée par l'OMS en 2001, sa mise à jour a débuté en 2006 avec un comité de direction de 8 membres issus de ces deux sociétés. Suite à une série de réunions et de discussions, ce comité de direction s'est entendu sur une liste de maladies et d'auteurs. Comme dans la précédente édition, l'avis d'hématologues et d'oncologues a été pris en compte afin que cette classification garde un caractère pratique. Deux comités cliniques consultatifs, un pour les hémopathies myéloïdes et un autre pour les hémopathies lymphoïdes ont été sollicités. Des réunions de ces comités ont été organisées autour d'une série de problématiques, tels que les définitions des maladies, la nomenclature, le classement et la pertinence clinique.

Un aspect essentiel de cette classification est sa révision périodique permettant d'intégrer de nouvelles informations régulièrement. La *Society for Haematopathology* et l'*European Association for Haematopathology* se sont engagées, depuis plus de 10 ans, à mettre à jour la classification en fonction de l'évolution des connaissances, avec l'aide de cliniciens et en collaboration avec l'OMS.

Dans l'introduction de l'OMS 2008, les auteurs nous rappellent que la description précise d'une maladie est un préalable indispensable à l'établissement d'un diagnostic. Puis, seulement dans un deuxième temps, on peut établir un diagnostic, déterminer un pronostic et proposer un traitement à un patient. Ils expliquent qu'un consensus sur les définitions et la terminologie est donc essentiel pour la pratique clinique. Aussi, la classification idéale des maladies devrait contenir des entités clairement définies, cliniquement distinctes pour constituer un ensemble exhaustif de toutes les entités connues. Elle pourrait servir de base pour des enquêtes épidémiologiques. Elle devrait également être capable d'intégrer de nouvelles informations et faire l'objet de mises à jours régulières en fonction de l'évolution des connaissances.

Une classification revêt deux aspects. De manière générale, le processus d'identification de la maladie ; il s'agit du diagnostic. De manière individuelle, le processus de prédiction de l'agressivité de la maladie ; il s'agit du pronostic.

Les comités ont pu parvenir à un consensus sur la plupart des questions posées. Plus de 130 professionnels du monde entier ont participé à l'écriture des différents chapitres. Enfin, une réunion de concertation a eu lieu au sein de l'IARC, à Lyon, en France, pour prendre les décisions finales sur la classification et le contenu du livre.

La classification OMS 2008 a pour objectif de définir, de manière exhaustive, les différentes entités pour permettre un diagnostic par le pathologiste à l'aide d'outils qui lui sont disponibles. La connaissance des causes de ces tumeurs (souvent inconnues) ainsi que les informations disponibles pour définir l'entité sont essentielles. L'importance relative de chacune de ces caractéristiques varie selon l'état actuel des connaissances, il n'y a donc pas de véritable « *gold standard* ». L'établissement d'un consensus d'experts est un compromis indispensable, car une classification imparfaite semble davantage profitable que plusieurs classifications concurrentes. Au moment de la publication de l'édition précédente, les partisans d'autres classifications des tumeurs hématologiques ont convenu d'utiliser la classification OMS, mettant ainsi fin à des décennies de controverse.

La morphologie en cytologie est toujours importante et de nombreuses entités sont caractérisées par leurs aspects morphologiques. L'étude de l'immunophénotypage est également utilisée pour identifier la lignée maligne et distinguer les processus bénins des processus malins de la grande majorité des hémopathies. Dans certaines hémopathies, c'est la présence d'une anomalie génétique spécifique qui définit l'entité (exemple de la *leucémie myéloïde chronique avec le gène de fusion BCR-ABL1*). Enfin, la connaissance des caractéristiques cliniques et épidémiologiques peut orienter un diagnostic.

La plupart des maladies décrites dans la classification sont considérées comme des entités distinctes. Cependant, certaines ne sont pas aussi clairement définies, et sont donc étiquetées comme des entités provisoires (*ICD-O XXXX/X prov.*).

La classification OMS 2008 regroupe les différentes néoplasies selon leur lignée d'appartenance : cellule myéloïde, lymphoïde ou histiocytaire/dendritiques. Pour chaque néoplasie un équivalent non tumoral est proposé. Aussi, les anomalies génétiques, comme les réarrangements de FGFR1, PDGFRA et de PDGFRB, peuvent donner lieu à des néoplasies de lignée myéloïde ou lymphoïde. Ces entités sont donc maintenant reconnues comme un groupe à part entière.

Au sein de chacun de ces groupes, deux sous-groupes se distinguent : les néoplasies touchant les précurseurs (LAM, lymphomes/leucémies lymphoblastiques, leucémies aiguës de lignage ambiguë et la *néoplasie à cellules dendritiques plasmacytoïdes blastiques*) et les néoplasies plus matures. Concernant la lignée myéloïde, les tumeurs matures sont organisées selon leurs caractéristiques biologiques (aspect myéloprolifératif avec une hématopoïèse efficace *versus* aspect de myélodysplasie avec hématopoïèse inefficace) ainsi que par leurs caractéristiques génétiques.

Cette édition de la classification intègre de nouveaux renseignements obtenus lors d'enquêtes fondamentales et cliniques depuis la dernière publication en 2001. Elle inclut de nouveaux critères diagnostiques (notamment dans les tumeurs myéloïdes) et de nouvelles considérations morphologiques, immunophénotypiques et cliniques.

Comme on peut le pressentir, la classification OMS 2008 est, pour beaucoup, basée sur l'histologie. Dans cette première partie de ce travail, un effort tout particulier mettra l'accent sur la cytologie sous forme de tableaux et de photographies. Pour commencer à organiser l'étude de

chaque entité, ce tableau répertorie les groupes majeurs des hémopathies malignes myéloïdes ainsi que leurs principales caractéristiques.

Tableau I : Principales caractéristiques des hémopathies myéloïdes

| Hémopathie | Richesse médullaire | % de blastes médullaires | Différenciation | Morphologie | Hématopoïèse | Sang | Organomégalie |
|---|--|---|--------------------------|---|----------------------------|--|---------------|
| Néoplasie myéloproliférative | Souvent augmentée, souvent normale dans la TE | Normal ou légèrement augmenté, < 10% en phase chronique | Présente | Lignées granulocytaire et érythroïde normales, lignée mégacaryocytaire anormale | Efficace | Variable, une ou plusieurs lignées augmentées | Fréquente |
| Néoplasie associée au réarrangement de PDGFRA, PDGFRB et FGFR1 | Augmentée | Normal ou légèrement augmenté, < 20% en phase chronique | Présente | Normale / subnormale | Efficace | Polynucléaires éosinophiles > 1,5 G/L | Fréquente |
| Syndrome myélodysplasique | Souvent augmentée, quelquefois normale ou diminuée | Normal ou augmenté < 20% | Présente | Dysplasie sur une ou plusieurs lignées | Inefficace | Cytopénie(s) | Rare |
| Néoplasie mixte/frontière | Augmentée | Normal ou légèrement augmenté < 20% | Présente | Souvent dysplasie sur une ou plusieurs lignées, minime dans la LMMJ | Variable selon les lignées | Variable, souvent hyperleucocytose | Fréquente |
| Leucémie aiguë myéloïde | Souvent augmentée | Augmenté ≥ 20% (sauf exceptions) | Variable, souvent minime | Variable, dysplasie plus ou moins associée | Inefficace | Leucocytes variables, souvent anémie et thrombopénie | Rare |

1.2 Pré-requis de la classification des néoplasies myéloïdes selon les critères OMS 2008

1.2.1 Introduction

Le classement des néoplasies myéloïdes s'appuie surtout sur la morphologie, la cytochimie et l'immunophénotypage. En effet, la nature des cellules néoplasiques et leur degré de maturation sont des informations essentielles. La détermination du pourcentage de blastes dans le sang périphérique, la moelle osseuse ou d'autres tissus est également importante pour classer les néoplasies myéloïdes et peut, quelquefois, préjuger de leur progression.

En complément de ces techniques, des études cytogénétiques et moléculaires sont souvent nécessaires au moment du diagnostic pour la reconnaissance des entités génétiquement

spécifiques. Au total, l'approche diagnostique est multidisciplinaire, il est donc important de mettre en corrélation les données des laboratoires avec les observations cliniques.

1.2.2 Morphologie

1.2.2.1 Sang périphérique

Un frottis de sang périphérique doit être réalisé puis examiné en corrélation avec les résultats de la numération sanguine. Le frottis sanguin est exécuté rapidement, afin d'éviter une altération des cellules, puis coloré au May-Grünwald-Giemsa (MGG). La vérification d'une coloration correcte est un préalable indispensable. Toutes les cellules sanguines (globules blancs, globules rouges et plaquettes) sont examinées à la recherche d'éventuelles anomalies.

L'évaluation de la granularité neutrophile est importante, dès la lecture du frottis, lorsque l'on soupçonne une dysmyélopoïèse. Dans le cadre d'une hémopathie suspectée ou avérée, il est également recommandé de réaliser une formule leucocytaire manuelle sur la base de 200 leucocytes du frottis, lorsque le nombre de leucocytes le permet.

1.2.2.2 Moelle osseuse

En parallèle du frottis sanguin, le frottis d'une aspiration de moelle osseuse doit être réalisé puis coloré au MGG pour une visualisation optimale, entre autres, des granulations cytoplasmiques ainsi que des textures chromatinienne. La classification reposant sur des pourcentages de blastes et d'autres cellules spécifiques, il faut donc faire un décompte sur un nombre assez important de cellules médullaires, soit 500 cellules nucléées. L'observation des cellules se fait dans une zone riche, proche d'un grain de moelle, sur des prélèvements les moins dilués possible. Le compte de plusieurs frottis peut réduire l'erreur due à la répartition irrégulière des cellules. Si une aspiration est difficile voire impossible en raison d'une fibrose, le décompte ne sera pas représentatif. La biopsie ostéomédullaire devra être réalisée.

Les cellules qui doivent être comptées sont les suivantes : les blastes, les promonocytes, les promyélocytes, les métamyélocytes, les polynucléaires neutrophiles en bande ou *band-cells*, les polynucléaires neutrophiles segmentés, les éosinophiles, les basophiles, les monocytes, les lymphocytes, les plasmocytes, les précurseurs érythroïdes et les mastocytes. Les mégacaryocytes, même dysplasiques, ne sont pas inclus.

Si un patient présente une néoplasie non myéloïde, comme un myélome, il est raisonnable d'exclure ces cellules néoplasiques du décompte pour évaluer correctement la néoplasie myéloïde.

1.2.2.3 Blastes

Le pourcentage des blastes myéloïdes est important pour le diagnostic, la classification et le pronostic des néoplasies myéloïdes. Dans le sang périphérique, il doit provenir d'un décompte sur 200 leucocytes. Dans la moelle osseuse, le décompte s'établit sur 500 cellules nucléées. Le pourcentage de blastes de l'aspiration de moelle osseuse pourra être mis en corrélation avec une estimation par la cytométrie en flux. Cette dernière ne devra pas servir de substitut à une inspection visuelle. Cependant, la pratique quotidienne montre que les pourcentages sont rarement corrélés (toujours inférieurs en cytométrie en flux du fait de la dilution progressive de l'aspiration).

Dans le décompte des blastes, on retrouve les myéloblastes, les monoblastes, les promonocytes, les mégacaryoblastes ainsi que les blastes de nature inconnue. Dans la *leucémie aiguë promyélocytaire*, les promyélocytes clonaux sont à considérer comme des blastes. Les proérythroblastos ne sont pas inclus dans ce décompte sauf dans le cas de la *leucémie aiguë érythroblastique pure* (ICD-O 9840/3). Comme vu précédemment, chez un patient présentant une néoplasie non myéloïde, il est raisonnable d'exclure ces cellules néoplasiques du compte des blastes.

Dans la moelle osseuse, une particularité dans le décompte des blastes existe lorsque les précurseurs de la lignée érythrocytaire représentent au moins 50% du décompte : les précurseurs érythrocytaires, les cellules lymphoïdes ainsi que les plasmocytes doivent alors être écartés du compte.

Quelques descriptions cytologiques sont proposées par la classification OMS 2008 :

Les myéloblastes ont une taille légèrement plus grande que les lymphocytes matures. Ils peuvent avoir la taille des monocytes voire même être plus gros. Le cytoplasme, d'une basophilie variable, est bleu-clair à bleu-foncé voire bleu-gris. Il peut contenir quelques granulations azurophiles. Les noyaux sont ronds ou ovoïdes avec une chromatine fine et habituellement pourvue de plusieurs nucléoles. Dans certains cas, les irrégularités nucléaires peuvent être importantes.

Les monoblastes sont de grandes cellules avec un cytoplasme abondant qui peut être gris clair à bleu. Ils peuvent émettre des pseudopodes. Leur noyau est habituellement rond avec une chromatine fine, laquée et un ou plusieurs nucléoles proéminents.

Les promonocytes ont un noyau délicatement convoluté, plié ou rainuré avec une chromatine finement dispersée, de petits nucléoles discrets voire absents et un cytoplasme finement granulé.

Les monocytes anormaux semblent immatures et ont une chromatine plus condensée que pour les promonocytes. Le noyau est convoluté, plié. Les granulations cytoplasmiques sont plus abondantes. Les nucléoles sont habituellement absents ou peu visibles.

La distinction entre monoblastes et promonocytes est souvent difficile. Cependant, les promonocytes sont considérés comme équivalents des monoblastes lorsqu'ils sont comptabilisés dans le diagnostic de la *leucémie aiguë monoblastique et monocyttaire* et de la *leucémie aiguë myélomonocytaire*. Cependant, la différence entre promonocytes et monocytes est essentielle, même si elle peut s'avérer difficile.

Les mégacaryoblastes sont généralement de taille moyenne à grande, avec un noyau rond, une chromatine finement réticulée et un à trois nucléole(s). Le cytoplasme est basophile, habituellement agranulaire et peut présenter des vacuoles cytoplasmiques.

1.2.3 Cytochimie

Des études cytochimiques sont utilisées pour déterminer la lignée des blastes. Bien qu'elles soient supplantées par la cytométrie en flux et l'immunohistochimie, la cytochimie garde un intérêt de part la facilité de mise en œuvre, de lecture et d'interprétation. Elle est généralement effectuée sur frottis de sang périphérique et d'aspiration de moelle osseuse mais peut être réalisée sur d'autres tissus.

La détection de la myéloperoxidase (MPO) indique une différenciation myéloïde. Mais son absence n'exclut pas une néoplasie myéloïde car certains myéloblastes et les monoblastes peuvent être MPO négatifs. L'activité MPO dans les myéloblastes est habituellement granulaire et souvent concentrée dans la région de l'appareil de Golgi alors que les monoblastes, bien que généralement MPO négatifs, peuvent montrer de fines granulations dispersées. Cet aspect devient plus prononcé pour les promonocytes. Les blastes lymphoïdes, les mégacaryoblastes et les éléments de la lignée érythrocytaire sont MPO négatifs.

La coloration Noir Soudan SSB (SSB pour *Sudan Black B*) est à mettre en parallèle avec la coloration MPO, mais reste moins spécifique. Des cas occasionnels de leucémie lymphoblastique SSB positifs sont décrits. Aussi, de discrètes granulations grises plutôt que des granulations intensément noires sont observées pour les myéloblastes.

Les réactions positives avec les estérases non spécifiques (NSE), α -naphtyl butyrate (ANB) et α -naphtyl acétate (ANA) illustrent une activité cytoplasmique diffuse des monoblastes et des monocytes. Les blastes lymphoïdes peuvent également présenter une faible activité NSE et les éléments neutrophiles sont généralement négatifs. Les mégacaryoblastes et les proérythroblastes peuvent avoir une activité ANA. Les granuleux sont partiellement résistants à l'inhibition par le fluorure de sodium (NaF) tandis que les monocytes sont inhibés par ce dernier.

La naphthol-ASD-chloroacétate estérase (CAE) est une coloration estérase spécifique qui colore principalement les cellules immatures de la lignée neutrophile et les mastocytes. La combinaison des colorations CAE et NSE permet l'identification des monocytes et des neutrophiles immatures et matures simultanément (intérêt dans la *leucémie aiguë myélomonocytaire*). Alors que les éosinophiles normaux sont CAE négatifs, les éosinophiles néoplasiques peuvent être positifs.

Dans la *leucémie érythroblastique aiguë*, une coloration PAS (*Periodic Acid-Schiff*) peut être utile pour mettre en évidence les proérythroblastes leucémiques (larges tâches cytoplasmiques).

Un récapitulatif de toutes ces techniques permet une meilleure vue d'ensemble de l'intérêt de la cytochimie en hématologie (voir *Tableau II, page suivante*). Un point est à souligner, la classification OMS 2008 ne nomme pas la coloration de Perls mais décrit le sidéroblaste en couronne. La définition retenue est rappelée. L'établissement de ce tableau a été établi à partir de plusieurs sources [1,2,3].

1.2.4 Immunophénotypage

L'analyse de l'immunophénotype à l'aide de la cytométrie en flux multiparamétrique est un outil essentiel dans la caractérisation des néoplasies myéloïdes. Elle permet la mise en évidence d'antigènes de différenciation CD (pour *cluster of differentiation*) qui caractérisent les lignées et leur stade de développement. L'analyse par cytométrie en flux n'est possible que sur des suspensions cellulaires.

La mise en évidence de la nature blastique est l'indication principale dans l'étude des hémopathies myéloïdes : elle permet de caractériser des blastes clonaux des leucémies aiguës myéloïdes ou la transformation d'un syndrome myélodysplasique, d'une néoplasie myéloproliférative ou d'une néoplasie myélodysplasique myéloproliférative. La cytométrie en flux multiparamétrique est la méthode privilégiée de l'analyse immunophénotypique en raison de sa capacité à analyser un grand nombre de cellules dans un temps relativement court. L'analyse de l'immunophénotype présente un rôle important puisqu'elle permet de distinguer finement une *LAM peu différenciée* d'une LAL et les phases blastiques myéloïdes ou lymphoïdes dans la LMC. Pour les LAM présentant des anomalies génétiques récurrentes, plusieurs ont des immunophénotypes caractéristiques qui peuvent aider à cibler les analyses de biologie moléculaire et de cytogénétique. Néanmoins, Les immunophénotypes des autres catégories de LAM sont extrêmement hétérogènes, probablement en raison de la grande diversité génétique. De plus, des immunophénotypes aberrants ou inhabituels ont été trouvés dans au moins 75% des

Tableau II : Principales techniques cytochimiques utilisées au laboratoire d'hématologie

| Technique cytochimique | Principe | Positivité | Éléments mis en évidence |
|---|--|--|--|
| Myéloperoxidase | Cette réaction permet la mise en évidence de l'activité peroxydasiqque des cellules des lignées granulueuse et monocyttaire. La production d'H ₂ O ₂ permet la transformation en un composé brun aux endroits où se trouve la peroxydase | La positivité apparaît sous forme d'un composé brun dans le cytoplasme | La positivité est très forte pour les granulueux matures et moins forte pour les granulueux immatures. La positivité est plus faible pour les monocytes et les promonocytes (granulations fines et dispersées) |
| Noir Soudan | Le principe se base sur la mise en évidence des lipides intracellulaires | La positivité apparaît sous forme de grains noirs | Monocytes et éventuellement les lymphocytes T (faible) |
| α-naphthyl butyrate estérase | | La positivité apparaît sous forme de granulations brunes | Granulueux matures et immatures, les monocytes (faible) |
| Naphthol- ASD chloroacétate estérase | Les estérases sont des enzymes qui hydrolysent des esters d'acides carboxyliques. le naphthol d'un substrat est libéré et se combine à un sel de diazonium pour former des dépôts colorés et insolubles aux endroits de l'activité estérasique | La positivité apparaît sous forme de granulations rouges | |
| Naphthol- ASD acétate estérase avec inhibition par le fluorure de sodium (Naf) | | La positivité apparaît sous forme de granulueux bleus se projetant sur le noyau et le cytoplasme des monocytes et des granulueux. La positivité des monocytes est plus ou moins complètement inhibée sur les frottis traités par le Naf, alors que la positivité des granulueux est peu modifiée | Monocytes et différenciation entre granulueux et monocytes |
| Coloration de Perls (au bleu de Prusse) | Cette réaction permet la mise en évidence de fer dans les érythroblastes. Sa révélation vient de son oxydation en ferri-ferricyanure à l'aide des composants chimiques en présence (ferricyanure de potassium et acide chlorhydrique) | La positivité apparaît sous forme de grains bleu-vert dans le cytoplasme des érythroblastes | Sidéroblastes type I : Présence de 1 à 4 grains Sidéroblastes type II : Présence de 5 grains ou plus, non répartis de façon périmucléaire* Sidéroblastes type III (ou sidéroblastes en couronne) : Présence de 5 grains ou plus, répartis de façon périmucléaire* * La notion de périmucléaire correspond au moins à un tiers du périmètre nucléaire de l'érythroblaste |
| PAS (periodic acid-Schiff) | Le principe se base sur la mise en évidence des polysaccharides (dont le glycogène). L'acide périodique libère les groupes aldéhydes qui réagissent avec le réactif de Schiff | La positivité apparaît sous forme de coloration rouge | Nombreux types cellulaires possibles (monocytaire, lymphoïde pathologique, myéloïde). Le réel usage vient de la forte positivité des blastes dans les leucémies aiguës de type érythroblastique et mégacaryocytaires |
| Bleu de toluidine | Cette réaction révèle la propriété métachromique des granulations spécifiques des mastocytes et des basophiles | La positivité apparaît sous forme d'une couleur rouge violacé, les autres structures sont colorées en bleu | Mastocytes et basophiles |

cas de LAM. Des aberrations similaires ont également été signalées dans les syndromes myélodysplasiques.

L'immunophénotypage par cytométrie en flux pourrait être utilisée pour étayer un diagnostic en cas de morphologie fruste. Ce point est en développement depuis la parution de publications à ce sujet. Pour exemple, un article de K. OGATA, en collaboration avec une équipe italienne, propose un protocole diagnostique par cytométrie en flux lorsque les critères « classiques » ne suffisent pas à établir un diagnostic de syndrome myélodysplasique [4]. Selon l'avancement de ces méthodes, la place de l'immunophénotypage sera probablement plus importante dans l'avenir.

Il a été suggéré que l'expression de certains antigènes, tels que CD7, CD9, CD11b, CD14, CD56 et CD34 pourrait être associée à une valeur de pronostic défavorable, mais ces données sont toujours controversées.

L'étude de l'immunophénotype par immunohistochimie est possible mais ne sera pas abordée.

1.2.5 Génétique

La classification OMS 2008 comprend un certain nombre d'entités définies en partie par des anomalies génétiques spécifiques, y compris des réarrangements de gène en raison de translocations chromosomiques et des mutations de gènes spécifiques. C'est pourquoi la détermination des caractéristiques génétiques des cellules néoplasiques doit être effectuée si cela est possible. Une analyse cytogénétique de moelle osseuse doit être effectuée au moment de l'évaluation initiale mais aussi pendant le suivi afin de détecter les éléments d'une éventuelle évolution génétique. Les études génétiques au diagnostic doivent être guidées par la clinique, la cytologie et les études immunophénotypiques.

Dans certains cas, les études par RT-PCR et/ou FISH permettent de détecter des réarrangements non observés dans l'analyse chromosomique initiale (il s'agit des anomalies cryptiques). Selon l'anomalie, la PCR quantitative réalisée au moment du diagnostic peut

également fournir un point de repère dans le suivi et dans la réponse au traitement. Aussi, un certain nombre de mutations génétiques sont des marqueurs diagnostiques et pronostiques importants dans toutes les catégories des néoplasies myéloïdes : comme les mutations de JAK2, KIT, NPM1, CEBPA, FLT3, RUNX1.

1.3 Référentiels pour l'aide au diagnostic

A chaque fois que cela a été possible, pour chacun des groupes d'hémopathies, les examens préconisés pour établir le diagnostic ont été indiqués. Les référentiels utilisés pour l'élaboration de ce travail sont la Société Française d'Hématologie (référentiel 2009) [5] et les Guides de Juste Prescription (2^{ème} version 2010) établis par le Réseau de biologie innovatrice en onco-hématologie ou RuBIH [6,7].

Depuis décembre 2010, le rapport final du RuBIH est disponible sur le site de l'INCA : (www.e-cancer.fr/component/docman/doc_download/6206-rapport-rubih). Cette publication est intitulée « Evaluation de la structuration et organisation en réseaux régionaux des activités de biologie innovantes en onco-hématologie ». Elle s'inscrit dans une démarche de contribution et non de recommandation. Son objectif principal est d'offrir à chaque malade atteint ou suspect d'une hémopathie maligne, le même accès à un diagnostic précis et de faire face à l'évolution rapide de la biologie innovatrice, notamment en biologie moléculaire. Pour tenter d'atteindre cet objectif, le point de départ indispensable est la prescription des examens adéquats.

L'établissement des Guides de Juste Prescription (GJP) biologiques a été adopté consensuellement par des comités pathologiques multidisciplinaires (cliniciens, pathologistes, biologistes) en concertation étroite avec la SFH. Ce travail a abouti à la rédaction de 7 tableaux de pathologies dont 3 sont utiles à l'élaboration de ce travail : les leucémies aiguës myéloïdes, les néoplasies myéloprolifératives et les syndromes myélodysplasiques (dont les néoplasies myélodysplasiques myéloprolifératives). Ces GJP ont vocation à être faciles d'utilisation, synthétiques, consultables en ligne et évolutifs. Nous présenterons les informations utiles au diagnostic de ces hémopathies.

Les GJP s'appliquent aux patients avec intention de traitement. Pour chaque pathologie, 4 types d'examens sont différenciés :

- « Indispensable/obligatoire » : ce qui est indispensable au diagnostic et/ou au traitement
- « Recommandé » : s'applique aux analyses utiles au diagnostic et/ou à la stratification thérapeutique individuelle
- « En évaluation » : analyse à faire uniquement dans le cadre des protocoles ou sous forme d'étude pilote locale
- « Non recommandé/inutile »

Pour chaque examen, il a été défini ceux à réaliser localement (Niveau A) et ceux susceptibles d'être délocalisés (Niveau B).

2 NÉOPLASIES MYÉLOPROLIFÉRATIVES

2.1 Introduction

2.1.1 Définition

Les néoplasies myéloprolifératives (NMP) sont des maladies hématopoïétiques clonales caractérisées par la prolifération d'une ou plusieurs lignées myéloïdes (granulocytaire, érythrocytaire, mégacaryocytaire, mastocytaire), sans blocage de la maturation. Elles touchent les adultes avec une fréquence maximale entre 50 et 80 ans. Mais certaines entités, particulièrement la *leucémie myéloïde chronique* et la *thrombocytémie essentielle*, touchent également les enfants. L'incidence de toutes les NMP est évaluée à 6-10 cas pour 100 000 personnes chaque année.

Au début de l'histoire naturelle de son évolution, la NMP est caractérisée par une hypercellularité de la moelle osseuse avec une différenciation hématopoïétique efficace et une augmentation du nombre de granulocytes, de globules rouges et/ou de plaquettes dans le sang. La splénomégalie et l'hépatomégalie sont liées à une séquestration de cellules sanguines ou à une prolifération de cellules hématopoïétiques extramédullaires.

Malgré un début insidieux, chaque NMP présente une progression par étapes qui aboutit à une fibrose médullaire, une hématopoïèse inefficace ou une transformation en phase blastique. L'évolution de la maladie peut être appréciée par une évolution génétique, la progression d'une organomégalie, l'apparition de cytopénie(s), de signes myélodysplasiques. La présence de 10 à 19% de blastes dans le sang ou la moelle osseuse illustre généralement une phase accélérée de la maladie. Un pourcentage de blastes de 20% ou plus est suffisant pour affirmer une transformation en phase blastique.

La recherche du chromosome Philadelphie et/ou du gène de fusion BCR-ABL1 est essentielle. Ce dernier est obligatoirement présent pour confirmer le diagnostic de LMC (seul critère indispensable) et obligatoirement absent pour les autres entités. Ces autres entités non-LMC sont diagnostiquées par plusieurs critères (cliniques, biologiques et aussi histologiques).

Les critères de classification des NMP ont été influencés par deux facteurs : la découverte récente d'anomalies génétiques impliquées dans la pathogénèse des néoplasies myéloprolifératives BCR-ABL1 négatives ainsi que la prise en compte de caractéristiques histologiques et cytologiques. Ces caractéristiques, en corrélation avec les caractères cliniques, pourront servir de critères pour identifier chaque NMP.

La plupart des néoplasies myéloprolifératives BCR-ABL1 négatives sont liées à des anomalies clonales impliquant des gènes qui codent des tyrosine-kinases (ex : gène de fusion BCR-ABL1 et JAK2). Ces anomalies décrites à ce jour comprennent des translocations ou des mutations ponctuelles de gènes donnant lieu à des tyrosine-kinases anormales qui activent des voies de transduction de signaux menant à une prolifération clonale. Ces anomalies génétiques sont utiles voire indispensables au diagnostic et prouvent que la prolifération myéloïde n'est pas réactionnelle. La mutation JAK2 V617F, la plus fréquente, est présente chez presque tous les patients atteints de *polyglobulie primitive* et chez près de la moitié des patients atteints de *myélofibrose primitive* et de *thrombocytémie essentielle*. Chez les quelques patients ayant une *polyglobulie primitive* qui n'ont pas la mutation JAK2 V617F, une mutation de JAK2 au niveau de l'exon 12 peut être constatée. Dans une faible proportion de cas de *myélofibrose primitive* et de *thrombocytémie essentielle*, une mutation W515K ou W515L du gène MPL est aussi rapportée. Il est important de noter que JAK2 V617F n'est spécifique d'aucune NMP et son absence n'exclut pas une NMP. De plus, sa présence est signalée dans certains cas de néoplasies myélodysplasiques myéloprolifératives et de LAM.

La *mastocytose systémique*, possédant de nombreuses similitudes avec les autres NMP, est presque toujours associée à la mutation D816V dans le gène KIT codant le récepteur de tyrosine-kinase.

Il faut garder à l'esprit que les critères non-génétiques restent indispensables au diagnostic, d'autant plus si aucune anomalie génétique n'est retrouvée.

2.1.2 Principaux changements par rapport à l'édition 2001

- L'intitulé « *myeloproliferative disease* » souvent traduit de l'anglais par « syndrome myéloprolifératif » a changé pour « *myeloproliferative neoplasm* » soit néoplasie myéloproliférative
- La mastocytose a été incluse dans cette catégorie
- Certains cas répondant aux critères de la *leucémie éosinophile chronique* selon l'édition 2001 peuvent maintenant être classés dans *les néoplasies myéloïdes ou lymphoïdes avec éosinophilie et réarrangements PDGFRA, PDGFRB ou FGFR1*. Lorsqu'aucun de ces réarrangements n'est détecté et qu'il n'y a pas le gène de fusion BCR-ABL1, ils sont considérés comme *leucémie éosinophile chronique, non spécifiée par ailleurs*.
- Les algorithmes de diagnostics pour la *polyglobulie primitive*, la *myélofibrose primitive* et la *thrombocytémie essentielle* ont été modifiés pour inclure des informations concernant JAK2 et des mutations similaires ainsi que des caractéristiques histologiques de la biopsie de moelle osseuse.
- Le seuil de la numération plaquettaire pour le diagnostic de *thrombocytémie essentielle* a été abaissé de 600 à 450 G/L.
- Les critères de LMC en phase d'accélération sont présentés avec réserve. Ils n'ont pas été pleinement évalués depuis l'avènement des inhibiteurs des tyrosine-kinases. Des révisions peuvent s'avérer nécessaires.

2.2 Leucémie myéloïde chronique

ICD-O-9875/3

La *leucémie myéloïde chronique* (LMC) se caractérise par la présence obligatoire du gène de fusion BCR-ABL1. Il s'agit d'une néoplasie myéloproliférative fréquente qui touche 1 à 2 personnes pour 100 000. L'âge médian du diagnostic est compris entre 50 et 70 ans. Il y a une légère prédominance masculine.

Au niveau clinique, lors de la phase chronique, l'envahissement se restreint plutôt aux tissus hématopoïétiques (sang périphérique, moelle osseuse voire rate et foie). Au diagnostic, 20 à 40% des patients sont asymptomatiques et le diagnostic est fait suite à la découverte de l'hyperleucocytose. Pour les patients symptomatiques, les signes les plus fréquemment retrouvés sont l'asthénie, la perte de poids, des sueurs nocturnes, une splénomégalie, une anémie.

Des cas atypiques avec une thrombocytose, sans hyperleucocytose, avec d'emblée une présentation de LMC blastique sont décrits. En l'absence de thérapie efficace, de nombreux patients évoluent en phase accélérée puis blastique avec une évolution clinique et biologique en rapport.

Lors de la phase blastique, un envahissement extramédullaire peut être observé (ganglions, peau, tissus osseux, système nerveux central). Les blastes sont, dans 70% des cas de lignée myéloïde et dans 20-30% de lignée lymphoïde (lignée B majoritaire). La cytochimie et l'immunophénotypage sont recommandés pour affirmer la nature des blastes.

La biologie moléculaire et la cytogénétique sont indispensables au diagnostic. La présence du gène de fusion BCR-ABL1 est obligatoire. Dans 90-95% des cas, le chromosome Philadelphie correspondant à la translocation t(9,22)(q34;q11.2) est retrouvé. Lors de la transformation blastique, 80% des patients présentent d'autres anomalies cytogénétiques comme la duplication du chromosome Philadelphie, la trisomie 8 et 19 ou i(17q). Au niveau de la biologie moléculaire, on peut retrouver des mutations sur les gènes TP53, RB1, MYC, p16^{INK4a} (CDKN2A), RAS, AML1, et EVI1.

Dans le sang, l'association d'une hyperleucocytose à PNN associée à une myélémie (équilibrée, non dystrophique, sans érythroblaste), avec basophilie est très évocatrice de la *leucémie myéloïde chronique*.

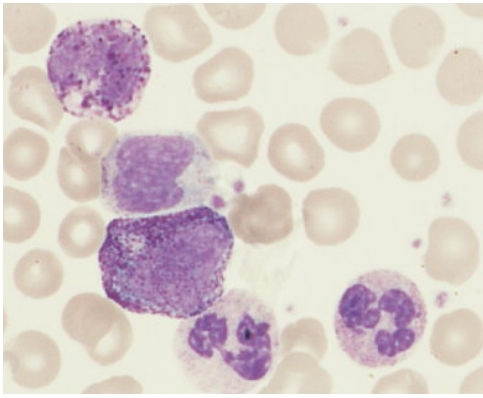


Photo 1 : LMC (Sg) : Basophilie et myélémie dans une LMC en phase chronique (obj.50)

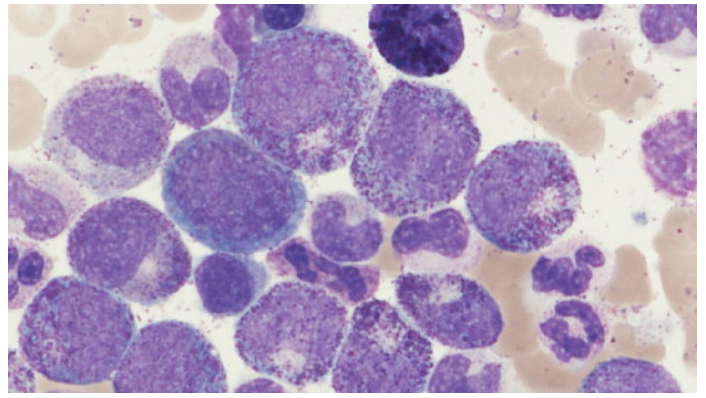


Photo 2 : LMC (MO) : Hyperplasie granuleuse de la LMC en phase chronique (obj.50)

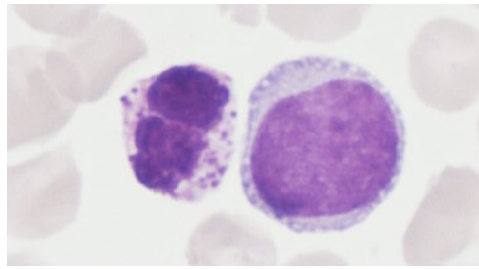


Photo 3 : LMC (Sg) : Blaste et polynucléaire basophile dans une LMC en phase blastique (obj.100)

Voici le recueil des données biologiques et cliniques de chaque stade. Ils n'ont qu'une valeur d'orientation :

Tableau III : Critères de chacune des phases de la leucémie myéloïde chronique

| Phases | Sang périphérique | Moelle osseuse | Autres |
|----------------------------|--|---|---|
| LMC phase chronique | Hyperleucocytose > 12 G/l (médiane à 100 G/L) | Hypercellularité | Asymptomatique (20-40%) |
| | Absence de dysplasie significative | Blastose ≤ 9% (souvent < 5%) | Splénomégalie |
| | Blastose ≤ 9% (souvent < 2%) | Ilôts érythroïdes diminués en nombre et en taille | Asthénie |
| | Basophilie, Éosinophilie | Mégacaryocytes le plus souvent augmentés, plutôt petits et à noyaux hypolobés | Perte de poids |
| | Plaquettes 150 -1000 G/L | | Sueurs nocturnes |
| | Thrombopénie inhabituelle | | Hépatomégalie plus rarement |
| | Monocytose < 3% monocytose supérieure possible si isoforme p190 de BCR-ABL1 | | |
| | Anémie | | |
| LMC phase accélérée | Hyperleucocytose persistante > 10 G/L | Hypercellularité | Splénomégalie persistante ou augmentée |
| | Thrombocytose persistante > 1000 G/L, malgré un traitement | Myélodysplasie possible | Évolution cytogénétique |
| | Thrombopénie persistante < 100 G/L, non engendrée par un traitement | Myélofibrose | |
| | Basophilie ≥ 20% | Mégacaryocytes de petites tailles | |
| | Blastes 10-19% | Blastes 10-19% | |
| LMC phase blastique | Blastose ≥ 20% | Blastose ≥ 20% | Prolifération blastique extramédullaire |
| | | | Évolution cytogénétique |

2.2.1 Référentiels

2.2.1.1 Recommandations SFH 2009

Le diagnostic est basé sur la clinique, la cytologie, la cytogénétique et la biologie moléculaire.

La SFH rapporte la splénomégalie, des signes généraux non spécifiques et indique que le plus souvent aucun symptôme n'est retrouvé. Cependant, L'OMS estime que 20 à 40% des patients sont asymptomatiques.

Dans le sang périphérique, on retrouve une hyperleucocytose avec myélémie harmonieuse, une thrombocytose fréquente et une basophilie. Dans la moelle osseuse, on retrouve une hyperplasie granuleuse harmonieuse et des mégacaryocytes de petite taille.

Au niveau cytogénétique, on met en évidence, au niveau de la moelle osseuse le chromosome Philadelphie ou l'un de ses variants, par cytogénétique conventionnelle ou par hybridation *in situ* (FISH) dans près de 95% des cas.

Sur le plan génétique, on met en évidence, dans le sang ou dans la moelle osseuse, le transcrite BCR-ABL par PCR quantitative, avec typage et quantification initiale du taux de transcrite.

2.2.1.2 RUBIH

Tableau IV : Critères diagnostiques de la leucémie myéloïde chronique d'après le Guide de Juste Prescription

| Examen | Niveau | Obligatoire | Recommandé | En évaluation (ou protocolaire) | Non recommandé sauf indication particulière |
|-------------------------------|--------|---|---|---------------------------------|---|
| Recherche BCR-ABL (sang) | A | A faire si hyperleucocytose / thrombocytose et caryotype non fait | | | |
| Quantification BCR-ABL (sang) | A | | oui | | |
| Myélogramme | A | oui (% de blastes) | | | |
| Biopsie médullaire | A | | | | Utile seulement si suspicion de fibrose |
| Caryotype standard (moelle) | A | oui | | | |
| FISH BCR-ABL | A | | Si recherche BCR-ABL positive et chromosome Philadelphie négative | | |
| DNATHèque | A | | oui | | |
| RNATHèque | A | | oui | | |
| Cellulothèque | B | | | oui | |

2.2.2 Conclusion et synthèse

Contrairement aux autres néoplasies myéloprolifératives, la classification OMS 2008, comme les autres référentiels, propose un seul critère diagnostique : le gène de fusion BCR-ABL1 et/ou le chromosome Philadelphie. La cytologie et la clinique apportent une orientation et peuvent permettre la différenciation des phases de LMC. Voici une proposition de démarche diagnostique :

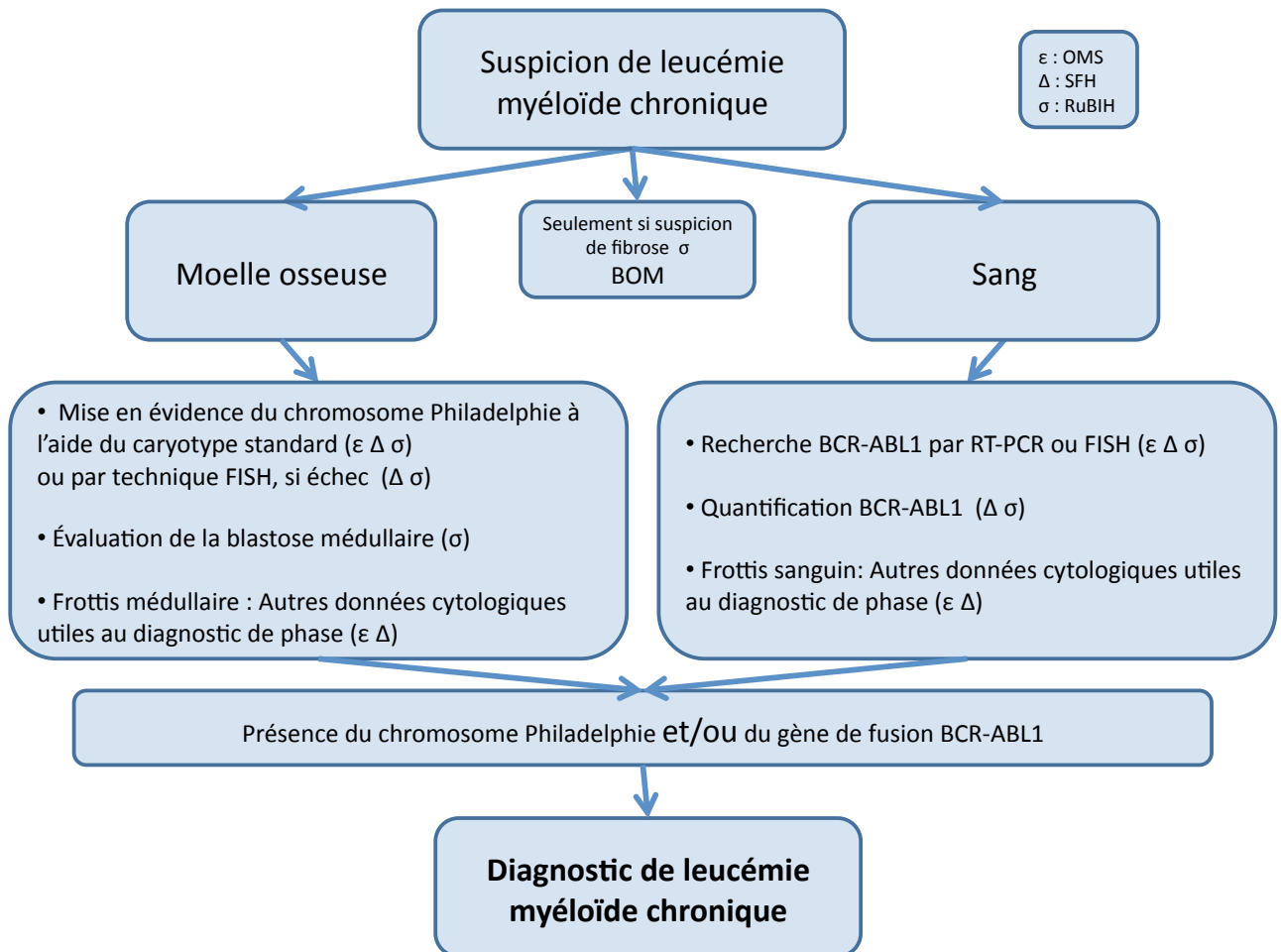


Illustration 1 : Démarche diagnostique de la leucémie myéloïde chronique

2.3 Leucémie neutrophile chronique

ICD-O 9963/3

La *leucémie neutrophile chronique* (LNC) ou leucémie à polynucléaires est une néoplasie myéloproliférative très rare (150 cas rapportés dans le monde). Son diagnostic n'est fait qu'après exclusion des autres néoplasies myéloprolifératives et en particulier de la *leucémie myéloïde chronique*. Dans plus de 20% des cas, la LNC est associée à une autre néoplasie (*myélome multiple*). Elle se caractérise par une hyperleucocytose neutrophile, une hypercellularité médullaire et une hépatosplénomégalie. On ne retrouve ni le gène de fusion BCR-ABL1 ni le chromosome Philadelphie.

La description étant pauvre dans l'ouvrage de l'OMS, d'autres sources ont été utilisées [8,9,10,11]. La LNC atteint les sujets entre 60 et 90 ans avec une médiane à 72 ans. Des cas exceptionnels de sujets plus jeunes et familiaux sont décrits. L'hyperleucocytose varie entre 25 et 250 G/L, classiquement sans myélémie. Mais dans 2/3 des cas, jusqu'à 5% de myélémie a été rapporté. Dans le sang comme dans la moelle osseuse, il n'y a pas d'excès de blastes (respectivement < 1% et < 5%). On ne retrouve ni d'éosinophilie ni de basophilie dans cette entité. Le taux d'hémoglobine est normal et on note quelquefois une discrète thrombopénie. Dans plus de 90% des cas, la cytogénétique est normale. Les anomalies les plus retrouvées sont la del(20q), les trisomies 8,9 et 21, la del(11q) et la del(12p).

Les autres néoplasies sont d'emblée à exclure : Les néoplasies myéloprolifératives, les syndromes myélodysplasiques (absence de dysplasie significative sur les lignées myéloïdes) et les néoplasies myélodysplasiques myéloprolifératives.

Pour l'OMS, le diagnostic de *leucémie neutrophile chronique* est posé si tous les critères cytologiques et cytogénétiques décrits ci-après (Tableau V), associés, au niveau clinique, à une hépatosplénomégalie sont retrouvés

Voici un tableau rappelant les critères diagnostiques de la LNC selon l'OMS 2008 :

Tableau V : Critères diagnostiques de la leucémie neutrophile chronique

| | |
|--|--|
| Sang périphérique | Hyperleucocytose \geq 25 G/L |
| | dont polynucléaires neutrophiles et <i>band cells</i> > 80% |
| | dont précurseurs granulocytaires < 10% |
| | Monocytose < 1 G/L |
| | Myéloblastes < 1% |
| Moelle osseuse | Hypercellularité (due aux précurseurs granulocytaires) |
| | Maturation neutrophile normale |
| | Myéloblastes <5% |
| | Mégacaryocytes normaux |
| Cytogénétique et Biologie moléculaire | Absence du gène de fusion BCR-ABL1 |
| | Absence du chromosome Philadelphie |
| | Absence des réarrangements PDGFRA, PDGFRB ou FGFR1 |
| | A noter que la présence de la mutation JAK2 V617F est possible. Le caryotype est normal dans plus de 90% des cas. Les anomalies les plus fréquemment retrouvées sont les trisomies 8 et 9 ainsi que les délétions 20q, 11q, 12p. |

2.4 Polyglobulie primitive

ICD-O 9950/3

La *polyglobulie primitive*, maladie de Vaquez, polyglobulie de Vaquez (PV) ou encore appelée par les Anglo-Saxons « *Polycythaemia vera* » est une néoplasie myéloproliférative caractérisée par une production excessive de globules rouges indépendamment de la régulation érythropoïétique. L'incidence est comprise entre 0,7 et 2,6 cas pour 100 000 personnes avec une légère prédominance masculine. La médiane d'âge au diagnostic est de 60 ans (très rare avant 20 ans).

La mutation de JAK2 est l'anomalie génétique la plus fréquemment retrouvée, mais reste non spécifique de la *polyglobulie primitive*. Une prolifération de la lignée érythrocytaire en résulte,

possiblement accompagnée de proliférations granulocytaire et mégacaryocytaire. Son diagnostic repose sur l'intégration de données cliniques, biologiques et histologiques.

Au niveau clinique, les symptômes majeurs sont l'hypertension artérielle et des troubles vasculaires comme des épisodes de thromboses, d'ischémie myocardique ou d'accident vasculaire cérébral. D'autres symptômes sont retrouvés : maux de tête, troubles visuels, paresthésies, prurit, érythromélagies. La splénomégalie est retrouvée dans 70% des cas et l'hépatomégalie chez 40% des patients.

La *polyglobulie primitive* est évolutive, trois phases sont à distinguer : une phase précoce, une phase d'état et une phase tardive.

Dans un premier temps, on retrouve souvent dans la moelle osseuse une hyperplasie des lignées myéloïdes. Les myéloblastes ne sont pas augmentés. Les mégacaryocytes sont nombreux, particulièrement dans les cas avec thrombocytose périphérique ; avec des aspects hyperlobés des noyaux.

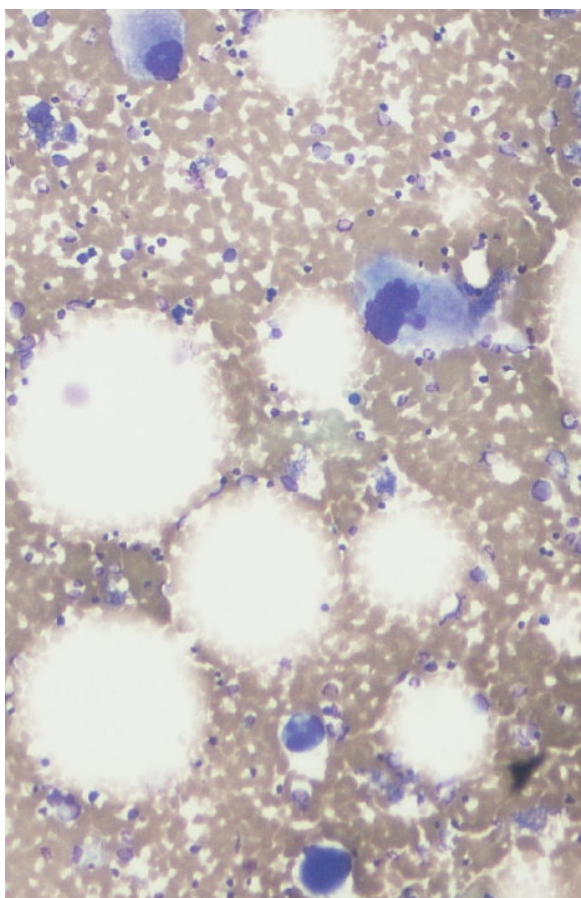


Photo 4 : PV (MO) : Nombreux mégacaryocytes sur un frottis médullaire (obj.10)

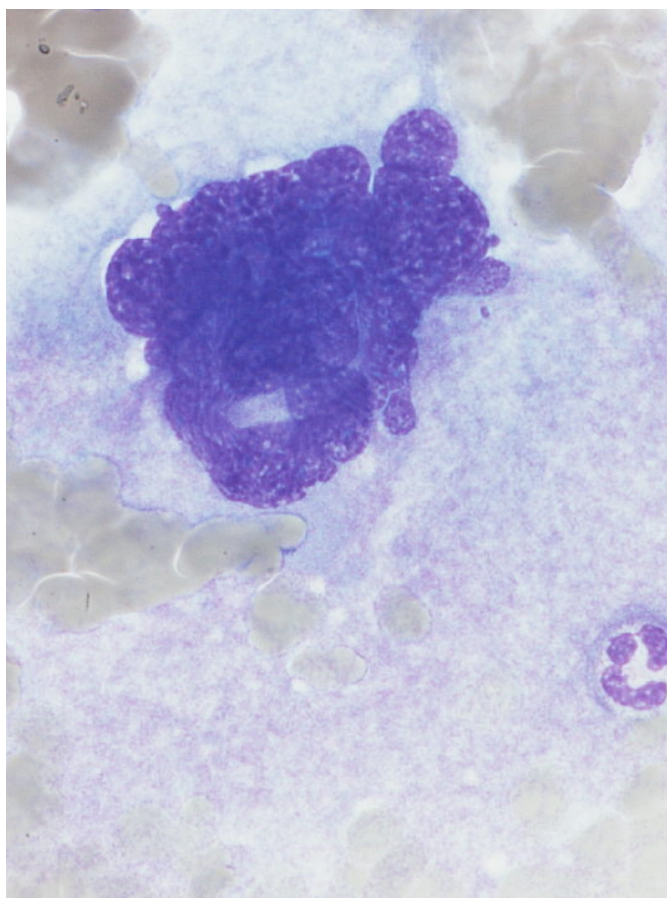


Photo 5 : PV (MO) : Mégacaryocyte hyperlobé (obj.50)

Les globules rouges en excès sont d'abord normochromes et normocytaires, puis hypochromes et microcytaires en cas de carence martiale. Dans plus de 15% des cas, une thrombocytose est retrouvée. Une polynucléose neutrophile, moins fréquemment une basophilie, peuvent être présentes. Une légère myélémie sans blaste est occasionnellement observée.

Plus tardivement, de façon progressive, une fibrose médullaire s'installe, l'hématopoïèse devient inefficace. Au niveau clinique, on observe souvent un hypersplénisme due à une hématopoïèse extramédullaire. Dans le sang périphérique, des cytopénies apparaissent, dont l'anémie. Une érythromyélie et une poïkilocytose avec des dacryocytes sont généralement observés. Dans la moelle osseuse, une hypoplasie myéloïde est fréquente, avec apparition possible de dysplasies. La présence de plus de 10% de blastes dans le sang périphérique et/ou la moelle osseuse ainsi que la présence de dysplasies significatives sont des signaux de transformation blastique ou d'évolution vers un syndrome myélodysplasique. Les cas avec 20% ou plus de blastes sont considérés comme des leucémies aiguës myéloïdes.

Une phase avancée de la maladie dite « *myélofibrose post-polyglobulie primitive* » ou « myélofibrose post-PV » doit être différenciée de la *myélofibrose primitive*. La classification OMS 2008 propose des critères diagnostiques biologiques, cliniques et histologiques.

Au niveau génétique, l'anomalie la plus fréquente (plus de 95% des patients), mais non spécifique, est la mutation JAK2 V617F. Une autre mutation similaire (exon 12 de JAK2) est rapportée. Les anomalies cytogénétiques sont retrouvées pour 20% des patients, avec une fréquence augmentée lorsque la maladie a évolué. Les plus fréquentes sont les trisomies 8 et 9 (quelquefois associées), les délétions 20q, 13q et 9p. On ne retrouve ni le chromosome Philadelphie ni le gène de fusion BCR-ABL1.

La preuve d'une augmentation de la masse sanguine est indispensable au diagnostic. Outre un taux élevé de l'hémoglobine, la classification OMS 2008 propose une autre manière d'apprécier l'augmentation de la masse sanguine : Il faut pour cela présenter un taux d'hématocrite ou d'hémoglobine supérieur au 99^{ème} percentile des valeurs théoriques selon l'âge, le sexe et l'altitude de résidence.

Peu d'études récentes ont été publiées sur la polyglobulie d'altitude. L'Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé (ANAES) a publié un travail en septembre 1997, intitulé « Lecture critique de l'hémogramme : valeurs seuils à reconnaître comme probablement pathologiques et principales variations non pathologiques » [12]. A ce sujet, elle estime que « les

variations des valeurs de l'hémogramme liées à l'altitude ne sont significatives que chez des patients vivant en permanence à des altitudes élevées (3000 à 4000 m), situation rare en clinique pour la population française ». On pourra donc s'affranchir de cette variable en France. Dans ces recommandations les valeurs seuils d'hémoglobine, selon l'âge et le sexe au 99^{ème} percentile ne sont pas mentionnées mais des données probablement assez proches, au 97,5^{ème} percentile sont rendues :

Tableau VI : Valeurs de l'hémoglobine au 97,5^{ème} percentile [12]

| Age (ans) | Valeur de l'hémoglobine (g/dl) au 97,5 ^{ème} percentile chez l'homme | Valeur de l'hémoglobine (g/dl) au 97,5 ^{ème} percentile chez la femme |
|-------------|---|--|
| 18-25 | 17,8 | 15,7 |
| 25-35 | 17,6 | 15,6 |
| 35-45 | 17,5 | 15,8 |
| 45-55 | 17,4 | 15,8 |
| 55-65 61-65 | 17,6 17,1 | 15,9 15,3 |
| >65 | 17,1 | 15,8 |

En ce qui concerne les données sur les taux d'hématocrite ; la SFH considère comme significatif un taux d'hématocrite supérieur ou égal à 60% chez l'homme et 56% chez la femme. Dans ces cas-là, la mesure de la masse sanguine par méthode isotopique est inutile.

Hormis le critère mineur d'appréciation de l'hypercellularité médullaire sur la BOM, les autres critères diagnostiques sont accessibles au biologiste. Le diagnostic de la *polyglobulie primitive* peut donc être établi par le biologiste.

Le degré de fibrose médullaire est évalué par l'anatomopathologiste, ce qui rend le diagnostic formel de myélofibrose post-PV difficile au laboratoire.

2.4.1 Référentiels

2.4.1.1 Recommandations SFH 2009

La découverte de la maladie est le plus souvent fortuite, devant la constatation à l'hémogramme d'une augmentation de l'hémoglobine, de l'hématocrite et des globules rouges.

Des signes fonctionnels traduisant l'hyperviscosité sanguine peuvent attirer l'attention. Le prurit aquagénique et les crises érythromélagiques sont inconstants mais très évocateurs.

Une complication thrombotique, veineuse ou plus rarement artérielle, peut également être révélatrice. Les thromboses des veines portes ou des veines sus-hépatiques (syndrome de Budd-Chiari) sont fréquentes.

Les paramètres déterminants à l'hémogramme qui permettent d'évoquer, voire d'affirmer, l'existence d'une polyglobulie sont les augmentations conjointes de l'hématocrite, du nombre de globules rouges et du taux d'hémoglobine.

Au-delà de 56% d'hématocrite chez la femme et de 60% chez l'homme, la polyglobulie est certaine. Entre 48% et 56% chez la femme et entre 52% et 60% chez l'homme, une étude isotopique de la masse sanguine est nécessaire afin d'affirmer une polyglobulie vraie et d'éliminer une hémococoncentration. L'on parlera de polyglobulie vraie si le volume globulaire total dépasse de plus de 25% la valeur théorique normale. Le volume plasmatique total est quant à lui souvent un peu augmenté dans la PV.

La découverte récente de la mutation JAK2 V617F apporte une contribution décisive au diagnostic de la PV puisqu'elle est retrouvée dans plus de 90% des cas. La recherche de cette mutation par les techniques de biologie moléculaire doit donc être rapidement réalisée pour confirmer une PV et éliminer une polyglobulie secondaire.

Si la recherche de la mutation JAK2 V617F se révèle négative, le diagnostic de PV doit alors s'appuyer sur les critères habituels :

- Présence d'une splénomégalie, palpable dans environ un tiers des cas, retrouvée plus souvent après recours à l'échographie abdominale
- Existence d'une polynucléose neutrophile et/ou d'une hyperplaquettose, retrouvées chacune dans environ la moitié des cas
- Formation spontanée de colonies érythrocytaires endogènes traduisant l'hypersensibilité à l'érythropoïétine. Cette technique, qui peut être effectuée sur prélèvement sanguin, est de réalisation délicate et de standardisation difficile. Elle revêt cependant un grand intérêt dans des mains expérimentées
- Taux d'érythropoïétine sérique abaissé voire normal

- Présence d'une autre mutation de JAK2 que la V617F (mutations situées dans l'exon 12 du gène, décrites en 2007, et qui pourraient expliquer la majorité des PV V617F négatives)
- La présence d'une autre anomalie clonale acquise, recherchée en cytogénétique classique sur moelle osseuse, peut aider au diagnostic des rares cas non mutés en JAK2

L'aspect histologique médullaire peut être évocateur en montrant une hyperplasie des trois lignées myéloïdes avec amas de mégacaryocytes pléiomorphes et densification de la réticuline, mais la reproductibilité entre observateurs est souvent imparfaite.

En l'absence de tout élément en faveur d'une myéloprolifération, les diverses étiologies de polyglobulie secondaire devront alors être passées en revue. La négativité de cette enquête, aussi exhaustive que possible, aboutira au diagnostic d'attente d'érythrocytose pure.

2.4.1.2 RUBIH

Tableau VII : Critères diagnostiques de la polyglobulie primitive d'après le Guide de Juste Prescription

| Examen | Niveau | Obligatoire | Recommandé | En évaluation (ou protocolaire) | Non recommandé sauf indication particulière |
|---|--------|-------------|---|---------------------------------|--|
| Recherche de mutation JAK2 V617F (sang) | A | oui | | | |
| Quantification JAK2 V617F (sang) | B | | | oui | |
| Dosage sérique d'érythropoïétine | A | oui | | | |
| Volume globulaire isotopique | A | | oui | | |
| Myélogramme | A | | | | inutile en soi, sert à prélever d'autres examens |
| Biopsie médullaire | A | | si JAK2 V617F négatif | | |
| Culture de progéniteurs hématopoïétiques | B | | si JAK2 V617F négatif | | |
| Caryotype standard (moelle) | A | | si JAK2 V617F négatif | | |
| Recherche autres mutations exon 12 de JAK 2 | B | | si JAK2 V617F négatif | | |
| Recherche causes rares de polyglobulie | B | | si V617F et exon 12 négatif (avis spécialisé souhaitable) | | |
| Recherche de mutations MPL | B | | | | oui |
| RQ-PCR PRV-1 | B | | | | oui |
| Nouveaux marqueurs moléculaires | B | | | oui | |
| DNathèque | A | | oui | | |
| RNathèque | A | | | oui | |
| Cellulothèque | B | | si moelle prélevée | | |

2.4.2 Conclusion et synthèse

Pour l'OMS 2008, le diagnostic de *polyglobulie primitive* est posé si au moins 2 critères majeurs + 1 critère mineur ou le 1^{er} critère majeur + 2 critères mineurs sont retrouvés

Critères majeurs :

- Masse sanguine augmentée

Homme : Hémoglobine > 18,5 g/dl

Ou hémoglobine > 17 g/l si taux de base < 15 g/dl (hors traitement martial)

Ou masse sanguine isotopique > 36 mg/ml (> 25% de la valeur normale)

Femme : Hémoglobine > 16,5 g/dl

Ou hémoglobine > 15 g/dl si taux de base < 13 g/dl (hors traitement martial)

Ou masse sanguine isotopique > 32 mg/ml (> 25% de la valeur normale)

Homme/Femme : Hémoglobine ou hématocrite > 99^{ème} percentile déterminés par une méthode de référence selon l'âge, le sexe et l'altitude de résidence

- Présence de JAK2 V617F ou mutation similaire (ex : exon 12)

Critères mineurs :

- Biopsie ostéomédullaire : Hypercellularité (3 lignées myéloïdes hyperplasiques)
- Biochimie /Hormonologie : Diminution du taux sérique d'érythropoïétine
- Culture cellulaire : Pousse spontanée de progéniteurs érythroblastiques

Pour l'OMS 2008, le diagnostic de myélofibrose post-PV est posé si l'on retrouve au moins 2 critères majeurs + 2 critères mineurs

Critères majeurs :

- Diagnostic de la polyglobulie primitive

- Fibrose médullaire grade 2, 3 ou 4

Critères mineurs :

- Anémie (pouvant être causée par des saignées ou des traitements cytoréducteurs indiqués dans la polyglobulie)
- Erythromyélocytémie
- Augmentation de plus de 5cm ou apparition d'une splénomégalie
- Présence de 2 ou 3 signes constitutionnels suivants :
 - o Perte de poids de plus de 10% dans les 6 mois
 - o Sueurs nocturnes
 - o Fièvre inexpliquée > 37,5°C

Voici une proposition de démarche diagnostique de la polyglobulie de Vaquez :

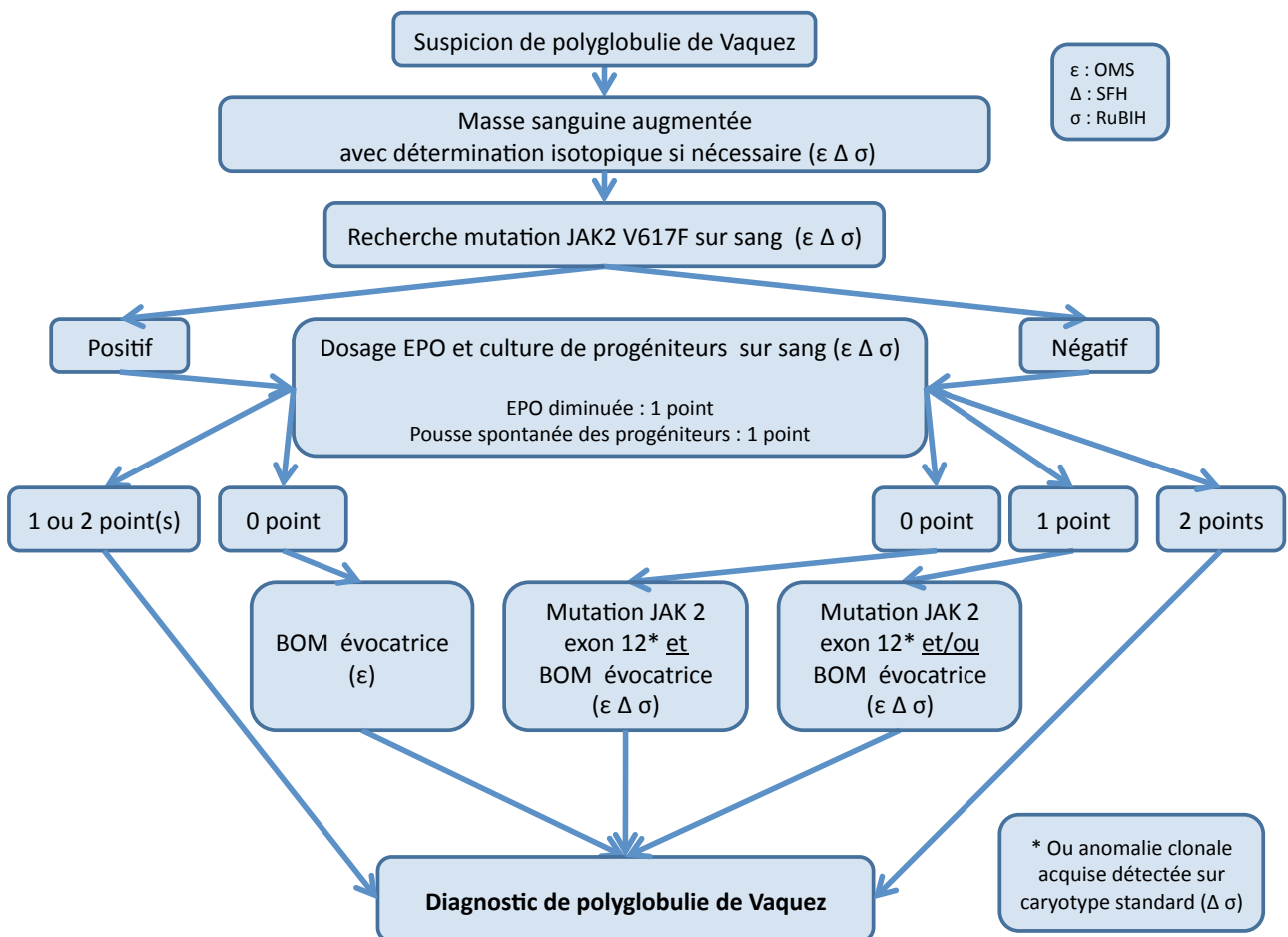


Illustration 2 : Démarche diagnostique de la polyglobulie de Vaquez

L'augmentation du taux d'hématocrite, d'hémoglobine, la présence fréquente d'une polynucléose neutrophile ou d'une thrombocytose rendent la numération sanguine incontournable. Elle n'est cependant pas mentionnée dans le GJP.

L'indication de la mesure isotopique de la masse sanguine en première intention commence à être remise en cause, car son accès reste tout de même limité [13]. Le RuBIH recommande une détermination (sous-entendue) systématique. La SFH la préconise seulement lorsque l'hématocrite est comprise entre 48% et 56% chez l'homme, 52% et 60% chez la femme.

La classification OMS propose, au final, trois possibilités pour affirmer l'augmentation de la masse sanguine avant l'éventualité de mesure directe par technique chaude. L'OMS tient compte de la difficulté à mettre en œuvre cet outil.

Après la détermination de la polyglobulie vraie, l'examen incontournable est la recherche de la mutation JAK2 V617F. On peut recommander le seul dosage de l'EPO en cas de recherche positive. La culture de progéniteurs est à effectuer en plus du dosage de l'EPO en cas d'absence de mutation JAK2 V617. Les autres examens possibles (BOM, recherche d'autres mutations, clonalité) seront utiles en cas d'insuffisance de critères diagnostiques malgré une forte suspicion de PV.

2.5 Myélofibrose primitive

ICD-O 9961/3

La *myélofibrose primitive* (MFP) ou splénomégalie myéloïde est une néoplasie myéloproliférative caractérisée par une prolifération mégacaryocytaire et granulocytaire dans la moelle osseuse. Elle s'associe à une fibrose du tissu conjonctif médullaire et à une hématopoïèse extramédullaire.

Dans la première phase de la pathologie dite préfibrotique, la fibrose est absente. Dans la phase d'état, la fibrose réticulinique et/ou collagénique est marquée, souvent associée à une ostéosclérose. On retrouve, au niveau clinique, une hépatosplénomégalie.

Au niveau épidémiologique, on estime à 0,5-1,5 cas pour 100 000, chaque année (phase fibrotique). La moyenne d'âge au diagnostic est de 60-70 ans, sans prédominance d'un sexe. Les enfants sont rarement atteints.

Au diagnostic, 30% de patients sont asymptomatiques. La découverte d'une splénomégalie, d'une érythromyélie inexplicée ou d'une augmentation de LDH sont souvent les premiers signes évocateurs. Lors de la phase d'état, on retrouve une asthénie, une dyspnée, une perte de poids, des sueurs nocturnes, une fièvre modérée, des symptômes hémorragiques. Une hyperuricémie peut donner de l'arthrite goutteuse et des calculs rénaux. La splénomégalie est révélée dans plus de 90% des cas, l'hépatomégalie dans 50% des cas.

Le diagnostic se base surtout sur la biopsie ostéomédullaire, la clinique et la recherche de la mutation JAK2. Ces deux premiers critères échappent au biologiste sur le terrain. Toutefois, la NFS reste un outil puissant du dépistage à condition qu'elle soit correctement interprétée. Même dans les formes atypiques avec anémie isolée ou thrombocytose isolée, l'érythromyélie et les dacryocytes présentent une grande valeur.

Quatre stades sont différenciés dans la *myélofibrose primitive*. Ils sont déterminés par l'anatomopathologie (MF-0, MF-1, MF-2 et MF-3) selon la présence de fibrose réticulinique, collagénique, de l'ostéosclérose. Pour l'étude morphologique, on peut scinder la myélofibrose primitive en 2 grandes étapes d'évolution : la phase préfibrotique / phase précoce (MF-0 et MF-1) et la phase d'état avec fibrose avancée ou phase fibrotique (MF-2 et MF-3).

Phase préfibrotique/phase précoce (MF-0 et MF-1)

Seulement 30 à 40% des patients sont diagnostiqués lors de la phase préfibrotique. La biopsie de moelle osseuse est hypercellulaire avec une augmentation des polynucléaires neutrophiles et des mégacaryocytes atypiques. Ces mégacaryocytes sont regroupés en amas denses, de taille variant de petite à grande, dont le rapport nucléocytoplasmique est anormal,

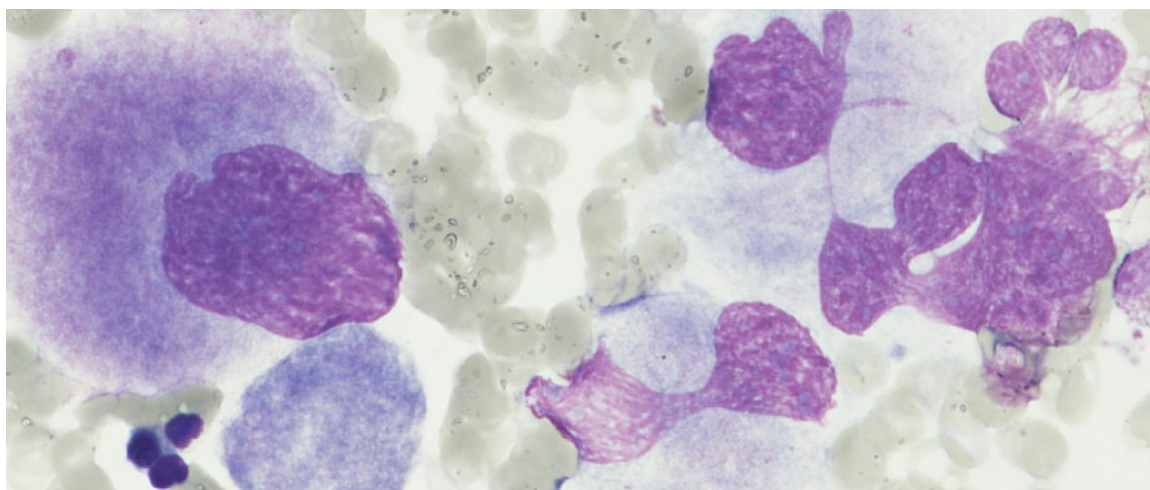


Photo 6 : MFP (MO) : Dysmégacaryopoïèse : mégacaryocytes en amas avec des noyaux atypiques (obj.50)

avec un aspect hyperchromatique, bulbeux ou irrégulièrement contourné des noyaux. Une thrombocytose périphérique peut être observée lors de ces phases précoces. Il n'y a pas d'excès de blastes. Dans la plupart des cas, l'érythropoïèse est diminuée.

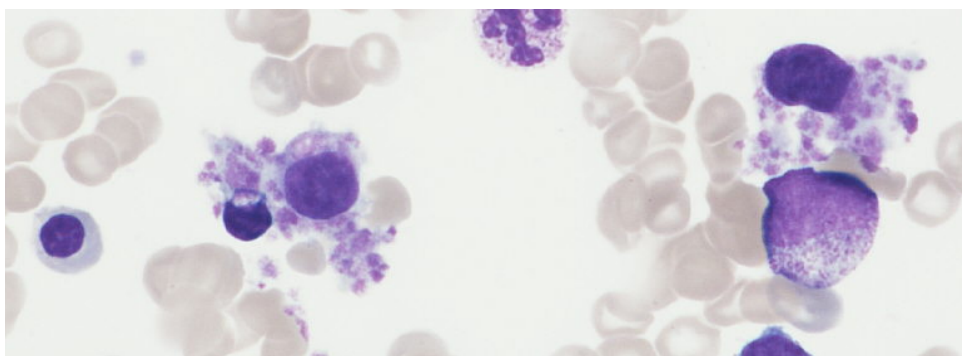


Photo 7 : MFP (MO) : Dysmégacaryopoïèse (micromégacaryocytes) (obj.50)

Phase fibrotique (MF-2 et MF-3)

La majorité des patients est diagnostiquée lors de ces stades avancés de la fibrose. Dans le sang, on retrouve une érythromyélie, des anomalies érythrocytaires marquées dont les dacryocytes. Il existe une dysérythropoïèse.

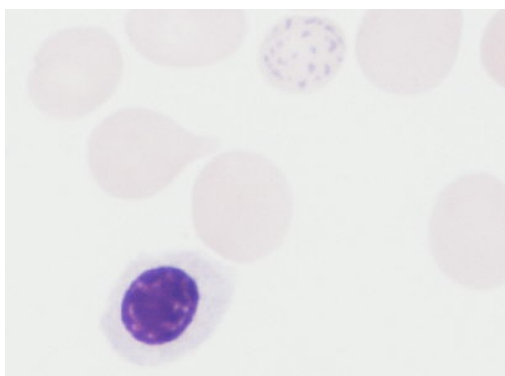


Photo 8 : MFP (Sg) : érythroblaste, hématie ponctuée et dacryocyte (obj.100)

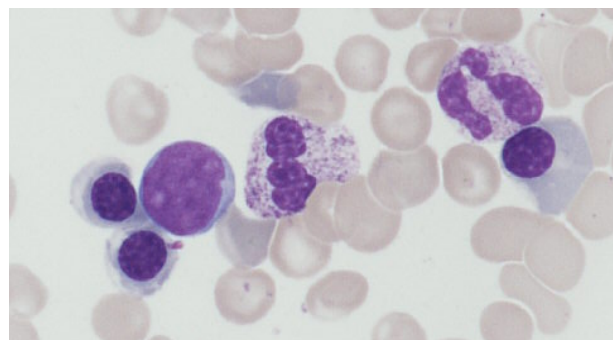


Photo 9 : MFP (Sg) : Blaste indifférencié et dysérythropoïèse (érythroblastes à cytoplasmes feuilletés) (obj.50)

La moelle osseuse peut rester, par endroit, hypercellulaire, mais est souvent retrouvée normocellulaire voire hypocellulaire du fait de la fibrose. Les mégacaryocytes atypiques restent les éléments les plus caractéristiques s'ils sont retrouvés.

La blastose médullaire est inférieure à 10%, mais si elle atteint 20%, il s'agit d'une leucémie aiguë myéloïde. Le compte d'une éventuelle blastose médullaire peut être évalué par immunohistochimie. L'évolutivité de la myélofibrose est appréciée par l'anatomopathologiste.

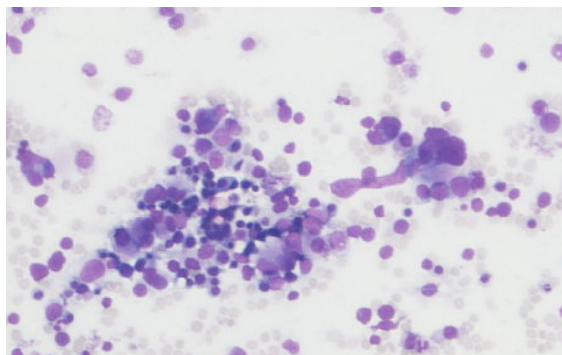


Photo 10 : MFP (MO) : Moelle osseuse hypercellulaire par endroit avec mégacaryocytes dystrophiques (obj.10)

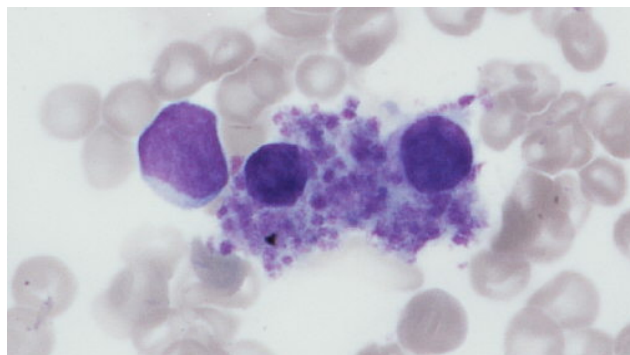


Photo 11 : MFP (MO) : Blaste et micromégacaryocytes (obj.50)

Au niveau génétique, aucune anomalie n'est caractéristique de la *myélofibrose primitive*. Cependant, la mutation JAK2 V617F est retrouvée dans 50% des cas (phase fibrotique). La mutation MPL W515K/L est rapportée chez 5% des patients. On ne retrouve ni le chromosome Philadelphie ni le gène de fusion BCR-ABL1. Les anomalies cytogénétiques sont présentes chez plus de 30% des patients. Les plus fréquentes sont la délétion 20q, la trisomie partielle 1q, les trisomies 9 et 8. La présence de la délétion del(13)(q12-22) ou der(6)t(1;6) (q21-23;p21.3) suggère une myélofibrose primitive sans être véritablement spécifique.

2.5.1 Référentiels

2.5.1.1 Recommandations SFH 2009

La maladie est d'ordinaire asymptomatique mais elle peut parfois s'accompagner d'une asthénie, d'un syndrome anémique et de signes généraux, signant alors le plus souvent une maladie évolutive ou en transformation.

Le diagnostic est suspecté devant la découverte d'une splénomégalie et/ou d'anomalies de l'hémogramme. La splénomégalie est la caractéristique clinique prédominante, quasi constante au diagnostic et de taille croissante avec l'évolution. Son absence persistante doit faire remettre en cause le diagnostic. Une échographie ou un scanner abdominal peuvent être utiles pour confirmer la splénomégalie, sa taille et son caractère homogène. Une hépatomégalie est présente dans la moitié des cas, des adénopathies périphériques sont très rares et de volume modéré.

L'hémogramme est très évocateur avec des déformations caractéristiques des hématies (en larmes) et une érythromyélocytose quasi constante. L'hyperleucocytose est habituellement modérée, la numération plaquettaire est quant à elle variable, volontiers augmentée au début. Il existe une anémie dans $\frac{3}{4}$ des cas ; une hémoglobine normale, voire élevée justifie une mesure isotopique du volume globulaire pour exclure une maladie de Vaquez.

La numération des progéniteurs CD34+ circulants est généralement élevée, traduisant à la fois le caractère excessivement prolifératif de ces progéniteurs et leur migration dans le sang du fait de la fibrose médullaire ; une numération à moins de 10 cellules CD34+ par μl chez un patient non encore traité doit faire douter du diagnostic. La numération CD34+ constitue un indice prolifératif généralement corrélé avec l'augmentation de la LDH sérique ; le suivi des CD34+ est intéressant car une augmentation importante est un présage de transformation aiguë. La ponction médullaire est habituellement vouée à l'échec en raison de la fibrose.

La biopsie ostéomédullaire est l'élément essentiel du diagnostic. Elle montre l'association d'une prolifération mégacaryocytaire dystrophique, d'une fibrose réticulinique et/ou de collagène indispensable au diagnostic et d'une néoangiogénèse.

La recherche de la mutation V617F de JAK2 est positive dans un peu plus de 50% des cas, volontiers homozygote, et confirme le diagnostic de syndrome myéloprolifératif.

Le caryotype, rarement réalisable sur la moelle, faute de possibilité d'aspiration, est souvent fructueux sur prélèvement sanguin. Il permettra à la fois d'éliminer le diagnostic de leucémie myéloïde chronique et de préciser l'évaluation pronostique (caractère péjoratif d'un caryotype anormal).

D'autres examens paracliniques (scintigraphie médullaire, étude ferrocinétiq ue, IRM) sont rarement utiles sauf dans les formes atypiques.

2.5.1.2 RUBIH

Tableau VIII : Critères diagnostiques de la myélofibrose primitive d'après le Guide de Juste Prescription

| Examen | Niveau | Obligatoire | Recommandé | En évaluation (ou protocolaire) | Non recommandé sauf indication particulière |
|--|--------|---|---|---------------------------------|--|
| Recherche de mutation JAK2 V617F (sang) | A | oui | | | |
| Quantification JAK2 V617F (sang) | B | | | oui | |
| Recherche BCR-ABL (sang) | A | A faire si hyperleucocytose / thrombocytose et caryotype non fait | | | |
| Volume globulaire isotopique | A | | Si JAK2 V617F muté et Hémoglobine supérieure à 14 g/dl (F) ou 16 g/dl (H) | | |
| Scintigraphie médullaire | B | | | oui | |
| Dosage sérique d'érythropoïétine | A | | si anémie | | |
| Caryotype standard (moelle) | A | pour sujet < 65 ans | oui | | |
| Nombre de CD34 circulantes | A | | oui | | |
| Myélogramme | A | | | | inutile en soi, sert à prélever d'autres examens |
| Biopsie médullaire | A | oui | | | |
| Mutations MPL | B | | si JAK2 V617F négatif | si JAK2 V617F muté | |
| Culture de progéniteurs hématopoïétiques | B | | | | oui |
| DNAthèque | A | | oui | | |
| RNATHèque | A | | | oui | |
| Cellulothèque (sang) | B | | oui | | |

2.5.2 Conclusion et synthèse

Pour l'OMS, le diagnostic de myélofibrose primitive est posé si les 3 critères majeurs et au moins 2 critères mineurs sont retrouvés

Critères majeurs :

- Présence d'une prolifération et d'atypies des mégacaryocytes habituellement associées à une fibrose réticulinique et/ou collagénique

Ou absence de fibrose réticulinique avec hypercellularité médullaire (avec prolifération mégacaryocytaire, granuleuse et souvent érythropoïèse diminuée)

- Absence de critères OMS 2008 en faveur de la *polyglobulie primitive*, de la *leucémie myéloïde chronique avec gène de fusion BCR-ABL1*, d'un syndrome myélodysplasique ou de tout autre néoplasie myéloïde

- Présence de la mutation JAK2 V617F ou d'un autre marqueur de clonalité (ex : MPL W515K/L)

Ou absence de marqueur de clonalité avec absence de myélofibrose secondaire

Voici les causes de myélofibrose secondaires les plus fréquentes, proposées par la classification OMS 2008 : Maladie inflammatoire chronique, infection, maladie auto-immune, leucémie, néoplasie lymphoïde, métastases et origine toxique.

Critères mineurs : Ces critères mineurs peuvent être discrets et, *a fortiori*, marqués.

- Érythromyélocytémie
- Lactate Déshydrogénase (LDH) sérique augmentée
- Anémie
- Splénomégalie palpable

L'aspect très évocateur des dacryocytes, d'une érythromyélocytémie rend la numération sanguine incontournable. Pourtant, elle ne figure pas dans le panel d'examen préconisés par le RuBIH. La SFH et les GJP précisent finement le diagnostic différentiel à établir avec la polyglobulie de Vaquez et la LMC avec la détermination du volume globulaire isotopique, le dosage sérique de l'EPO et la recherche du gène de fusion BCR-ABL. Cependant, la phase préfibrotique de la *myélofibrose primitive* et la TE peuvent avoir des présentations semblables.

Le diagnostic formel de *myélofibrose primitive* implique l'élimination des myélofibroses post-TE et post-PV.

Le caractère prolifératif associé à la fibrose médullaire peut s'illustrer par la numération des progéniteurs CD34+ dans le sang. Cet aspect proposé par la SFH et le RuBIH n'est pas évoqué par l'OMS.

Voici une proposition de démarche diagnostique de la *myélobrose primitive* :

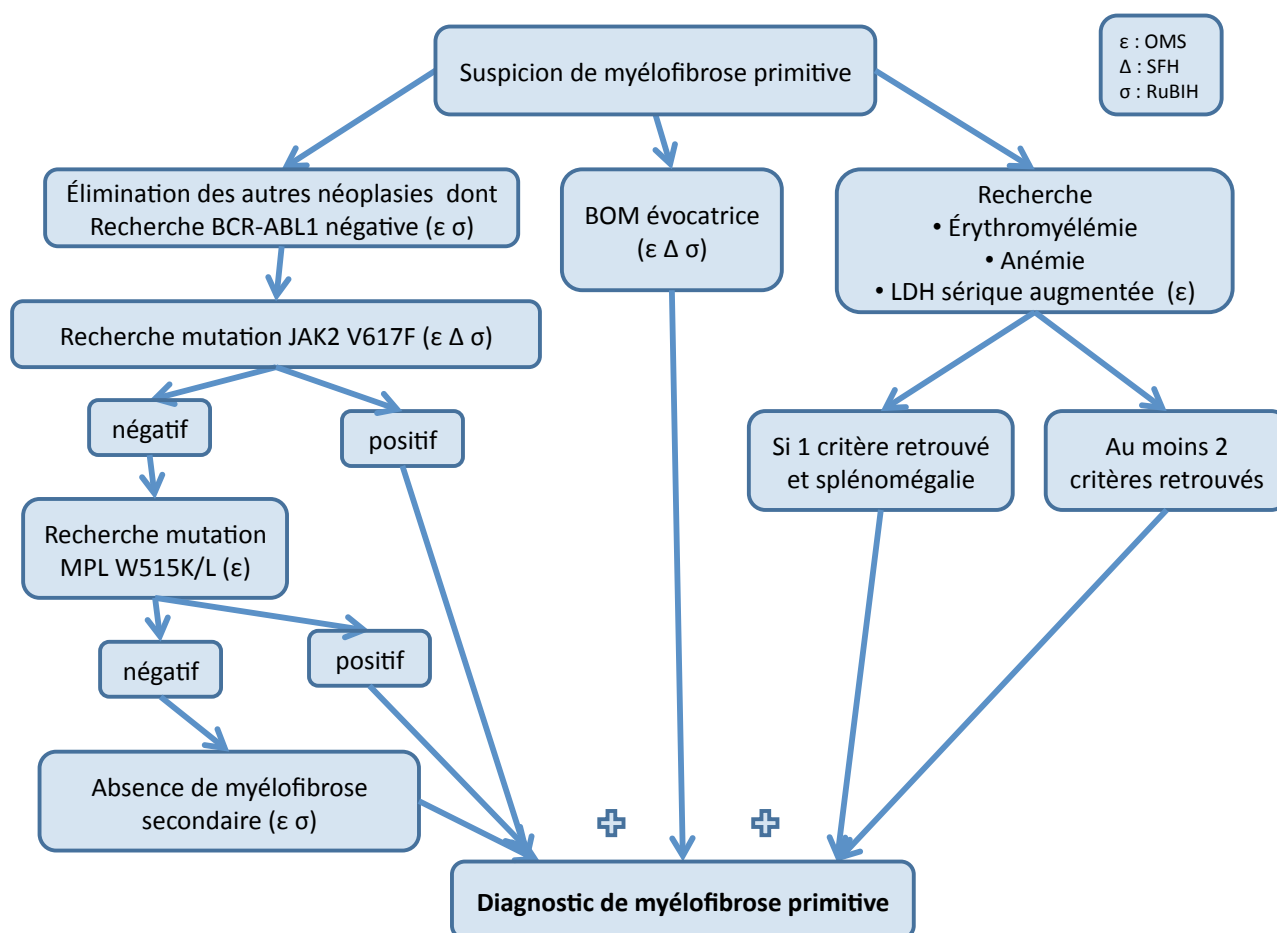


Illustration 3 : Démarche diagnostique de la myélobrose primitive

2.6 Thrombocytémie essentielle

ICD-O 9962/3

La *thrombocytémie essentielle* (TE) est une néoplasie myéloproliférative. Elle se caractérise par une thrombocytose persistante supérieure ou égale à 450 G/L dans le sang périphérique accompagnée de grands mégacaryocytes dans la moelle osseuse.

Son incidence est estimée à 0,6-2,5 cas pour 100 000 personnes. La moyenne d'âge de survenue est de 50-60 ans, sans prédominance homme/femme. Un deuxième pic existe chez la femme trentenaire. La TE peut s'observer chez l'enfant, mais doit être distinguée des thrombocytoses héréditaires. Cliniquement, on retrouve des épisodes de thrombose et/ou

hémorragiques. Une splénomégalie est retrouvée dans 50% des cas. L'hépatomégalie est moins fréquente (15-20%).

Au niveau cytologique, on retrouve souvent une anisocytose plaquettaire marquée avec présence de plaquettes géantes et, plus rarement, de plaquettes agranulaires, de formes atypiques, avec pseudopodes. Le nombre de globules blancs et de polynucléaires basophiles sont rarement augmentés. Une anémie peut être retrouvée lors d'un syndrome hémorragique (plutôt microcytaire hypochrome). On n'observe pas d'érythromyélocytose, de dacryocytes, d'excès de myéloblastes ni de myélodysplasie dans la TE.

La biopsie ostéoméduillaire (BOM) est un examen essentiel au diagnostic. La moelle osseuse est normocellulaire voire modérément hypercellulaire. L'anomalie majeure est la prolifération mégacaryocytaire avec une prédominance de mégacaryocytes de grandes à très grandes tailles, de cytoplasmes matures, avec des noyaux hyperlobés. On note souvent des images d'empériplèse (observation de cellules intactes dans les mégacaryocytes) non spécifiques.

Au niveau génétique et cytogénétique, aucune anomalie n'est caractéristique de la *thrombocytémie essentielle* mais la mutation JAK2 V617F est présente chez 40 à 50% des personnes atteintes. La mutation de MPL (MPL W515K/L) a été rapportée dans 1% des cas. Seulement 5 à 10% des patients atteints ont un caryotype anormal. Les anomalies les plus fréquentes sont la trisomie 8, des anomalies sur le bras long du chromosome 9 ainsi que les délétions 20q et 5q.

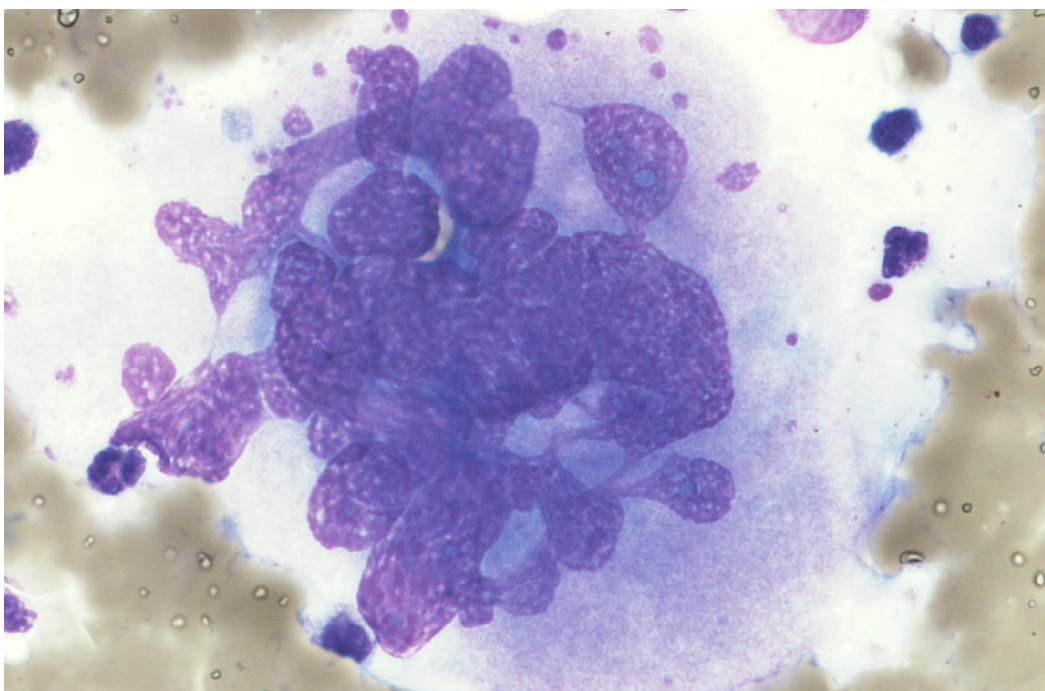


Photo 12 : TE (MO) : Mégacaryocyte de grande taille à noyau hyperlobé (obj.10)

2.6.1 Référentiels

2.6.1.1 RUBIH

Tableau IX : Critères diagnostiques de la thrombocytémie essentielle d'après le Guide de Juste Prescription

| Examen | Niveau | Obligatoire | Recommandé | En évaluation (ou protocolaire) | Non recommandé sauf indication particulière |
|--|--------|--|---|---------------------------------|---|
| Recherche de mutation JAK2 V617F (sang) | A | oui | | | |
| Quantification JAK2 V617F (sang) | B | | | oui | |
| Recherche BCR-ABL (sang) | A | RT-PCR détectant micro mineur et Majeur BCR, ou FISH | | | |
| Volume globulaire isotopique | A | | si JAK2 V617F muté et Hémoglobine supérieure à 14 g/dl (F) ou 16 g/dl (H) | | |
| Myélogramme | A | | oui | | |
| Biopsie médullaire | A | | fortement recommandée | | |
| Culture de progéniteurs hématopoïétiques | B | | si JAK2 V617F négatif | | |
| Perls sur moelle | A | | si suspicion d'une anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne et thrombocytose | | |
| Caryotype standard (moelle) | A | | pour éliminer un syndrome 5q- | | |
| Recherche de mutations MPL | B | | si JAK2 V617F négatif | si JAK2 V617F muté | |
| RQ-PCR PRV-1 | B | | | | oui |
| Nouveaux marqueurs moléculaires | B | | | oui | |
| DNAthèque | A | | oui | | |
| RNATHèque | A | | | oui | |
| Cellulothèque | B | | si moelle prélevée | | |

2.6.2 Conclusion et synthèse

Pour l'OMS, le diagnostic de *thrombocytose essentielle* est posé si ces 4 critères sont retrouvés :

- Thrombocytose persistante ≥ 450 G/L
- Biopsie ostéomédullaire : Hyperplasie mégacaryocytaire, significative et isolée. Les mégacaryocytes matures sont nombreux, de taille augmentée et très lobulés.
- Absence de critères OMS 2008 en faveur de la polyglobulie de Vaquez, de la *myélofibrose primitive*, de *leucémie myéloïde chronique*, de syndrome myélodysplasique ou de toute autre néoplasie myéloïde de la classification OMS 2008

- Présence de JAK2 V617F ou d'un autre marqueur de clonalité (ex : MPL W515K/L)

Ou absence de JAK2 V617F avec élimination d'une thrombocytose réactionnelle

Dans le cas où les 3 premiers critères sont présents, sans mutation JAK2 V617F détectée, avec une cause réactionnelle de thrombocytose retrouvée ; le diagnostic de *thrombocytémie essentielle* ne peut être exclu.

Voici les causes de thrombocytoses réactionnelles les plus fréquentes, proposées par l'OMS : carence en fer, splénectomie, chirurgie, infection, inflammation, collagénose, cancer métastasé, syndromes lymphoprolifératifs.

Pour l'OMS, le diagnostic de myélofibrose post-TE est fait si au moins 2 critères majeurs et 2 critères mineurs sont retrouvés

Critères majeurs :

- Diagnostic de *thrombocytémie essentielle*
- Fibrose médullaire grade 2, 3 ou 4

Critères mineurs :

- Anémie ou diminution de 2 g/dl ou plus de taux d'hémoglobine basal
- Érythromyélocytémie
- Augmentation splénique de plus de 5cm ou apparition d'une splénomégalie
- Lactate Déshydrogénase (LDH) augmentée
- Présence de 2 ou 3 signes constitutionnels suivants :
 - Perte de poids de plus de 10% dans les 6 mois
 - Sueurs nocturnes
 - Fièvre inexplicite > 37,5°C

Voici une proposition d'une démarche diagnostique de la *thrombocytémie essentielle* :

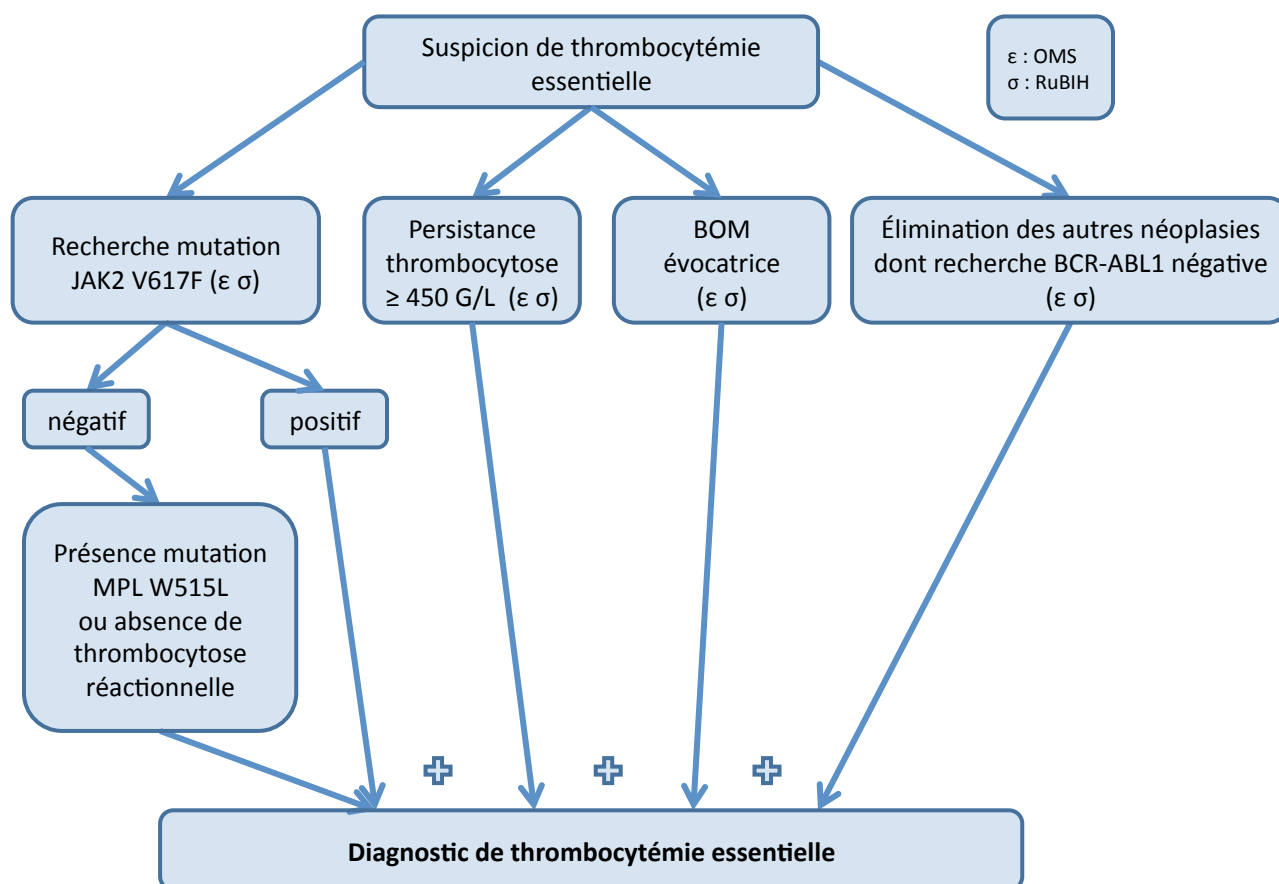


Illustration 4 : Démarche diagnostique de la thrombocytémie essentielle

A ce jour, il n'existe pas de recommandation de la SFH sur la *thrombocytémie essentielle*. Le RuBIH insiste sur les diagnostics différentiels (autres néoplasies myéloprolifératives, syndrome 5q- et *anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne et thrombocytose*). La recherche du gène de fusion BCR-ABL1 doit être systématique pour écarter une forme thrombocytémique de LMC (sans hyperleucocytose, ni basophilie, ni myélémie). La parenté avec la polyglobulie de Vaquez et la *myélofibrose primitive* impose d'écarter la polyglobulie vraie (1^{er} critère majeur) et d'effectuer une BOM.

De nombreux patients ne peuvent pas être clairement étiquetés car seulement 40-50% des patients présentent la mutation JAK2 V617F (1% pour la mutation MPL W515K/L). De plus, le critère « absence de thrombocytose réactionnelle » présente une place incohérente dans la démarche diagnostique car elle est logiquement évoquée dès la connaissance de la thrombocytose.

2.7 Leucémie éosinophile chronique, non spécifiée par ailleurs

ICD-O 9964/3

La *leucémie éosinophile chronique* (sous entendue non spécifiée par ailleurs) ou syndrome hyperéosinophilique (terme non recommandé) est une néoplasie myéloproliférative dans laquelle on retrouve une prolifération clonale de précurseurs éosinophiles. Elle est caractérisée par une augmentation du nombre d'éosinophiles dans le sang périphérique, dans la moelle osseuse et dans les tissus périphériques ; cette hyperéosinophilie étant l'anomalie hématologique dominante.

Cette entité est à différencier des hyperéosinophilies réactionnelles, du syndrome hyperéosinophilique idiopathique et du groupe des « *néoplasies myéloïdes et lymphoïdes avec hyperéosinophilie associées aux réarrangements PDGFRA, PDGFRB ou FGFR1* ».

L'épidémiologie n'est pas clairement établie du fait de la complexité diagnostique.

Au niveau clinique, le patient est quelquefois asymptomatique. Sinon, on retrouve souvent de la fièvre, une asthénie, une toux, un angioedème, des douleurs musculaires, un prurit, une diarrhée. Une fibrose peut toucher les muscles cardiaques et provoquer une cardiomégalie. Les valves cardiaques peuvent aussi être lésées et peuvent entraîner la formation d'embols. Cette fibrose est causée par des protéines lors de la dégranulation éosinophile. L'infiltration tissulaire donne des atteintes diverses selon l'organe touché (neuropathies, syndromes pulmonaires ou rhumatologiques).

Au niveau cytologique, on peut retrouver des éosinophiles avec une répartition anormale des granulations, avec des zones claires, une vacuolisation du cytoplasme, des anomalies de la condensation nucléaire, des éosinophiles de tailles augmentées. Tous ces signes cytologiques restent non spécifiques. Une polynucléose neutrophile accompagne souvent l'hyperéosinophilie ; et plus rarement une monocytose, une basophilie.

La moelle osseuse est hypercellulaire du fait de la prolifération éosinophile. La maturation éosinophile est normale, sans augmentation disproportionnée des myéloblastes. Les cristaux de Charcot-Leyden sont fréquents. Les lignées érythrocytaire et mégacaryocytaire sont habituellement normales.

Au niveau génétique, aucune anomalie n'est caractéristique de la *leucémie éosinophile chronique*. Les réarrangements PDGFRA, PDGFRB ou FGFR1, le chromosome Philadelphie ou le gène de fusion BCR-ABL1 ne sont pas retrouvés. La mutation de JAK2 est possible. On retrouve des

anomalies cytogénétiques observées dans d'autres néoplasies myéloïdes comme la trisomie 8 ou l'inversion (17q).

Le principal diagnostic différentiel est l'hyperéosinophilie réactionnelle pour laquelle les éventuelles causes doivent être écartées. Dans un deuxième temps une origine clonale est recherchée. Ce n'est qu'après exclusion de ces possibilités que l'on peut évoquer un syndrome hyperéosinophilique idiopathique. Il s'agit d'un diagnostic d'exclusion. Il se définit par une hyperéosinophilie supérieure ou égale à 1,5 G/L persistant depuis plus de 6 mois pour laquelle aucune cause n'a pas été retenue. Ce syndrome est associé à des atteintes organiques.

2.7.1 Conclusion et synthèse

Pour l'OMS, le diagnostic de *leucémie éosinophile chronique* est posé

si ces 4 critères sont retrouvés :

- Hyperéosinophilie $\geq 1,5$ G/L
- Absence du chromosome Philadelphie et du gène de fusion BCR-ABL1 et absence de critères OMS 2008 en faveur de toute néoplasie myéloproliférative ou néoplasie myélodysplasique myéloproliférative avec absence du réarrangement de PDGFRB ou de la translocation t(5;12)(q31-35;p13), absence du réarrangement de PDGFRA ou du gène de fusion FIP1L1-PDGFR1 et absence du réarrangement de FGFR1
- Moins de 20% de blastes (sang périphérique et moelle osseuse)
- Présence d'un clone cytogénétique

 Ou détection d'une anomalie génétique

 Ou présence de plus de 2% de blastes dans le sang (en restant < 20%)

 Ou présence de plus de 5% de blastes dans la moelle osseuse (en restant < 20%)

Aucune recommandation n'est publiée sur cette hémopathie par la SFH ou le RuBIH. L'hyperéosinophilie est très fréquemment rencontrée. Il existe une multitude de causes réactionnelles. Ce n'est qu'après l'exclusion des plus fréquentes d'entre elles qu'il faut évoquer une hémopathie clonale. Voici une proposition de démarche diagnostique de la *leucémie éosinophile chronique, non spécifiée par ailleurs* :

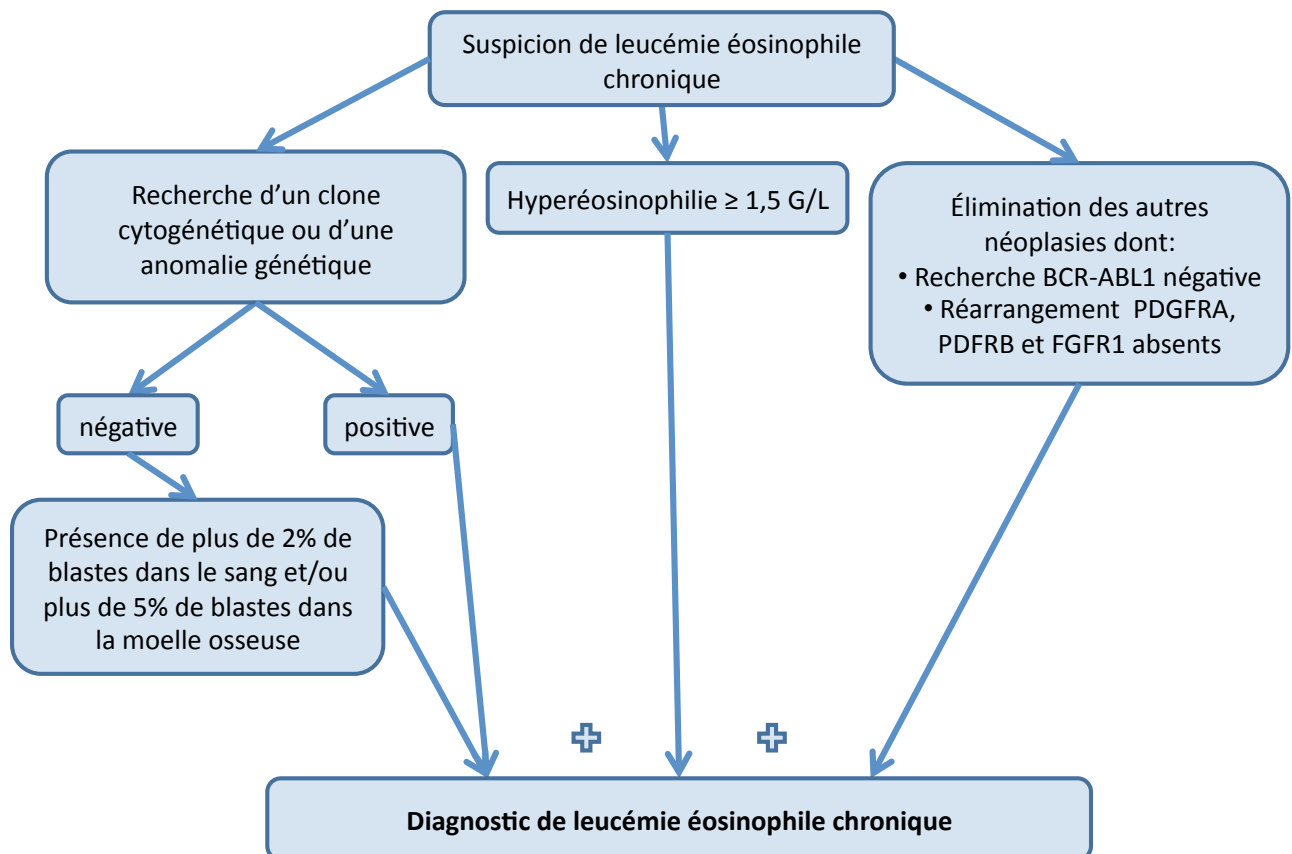


Illustration 5 : Démarche diagnostique de la leucémie éosinophile chronique

2.8 Mastocytoses

Les mastocytoses sont un groupe hétérogène de néoplasies myéloprolifératives. Elles sont caractérisées par la prolifération clonale de mastocytes dans différents organes ou tissus.

Certaines mastocytoses sont exclusivement cutanées. Le seul critère majeur de diagnostic de mastocytose systémique est anatomopathologique. L'intérêt de la biopsie ostéomédullaire est donc majeur. L'apport diagnostique du laboratoire d'hématologie est limité. Toutefois, la recherche de mastocytes atypiques (fusiformes et dégranulés) sur les frottis médullaires, en situation évocatrice, est informative : bilan d'une mastocytose cutanée, enquête après un choc anaphylactique, association avec des syndromes myélodysplasiques ou des néoplasies myéloprolifératives.

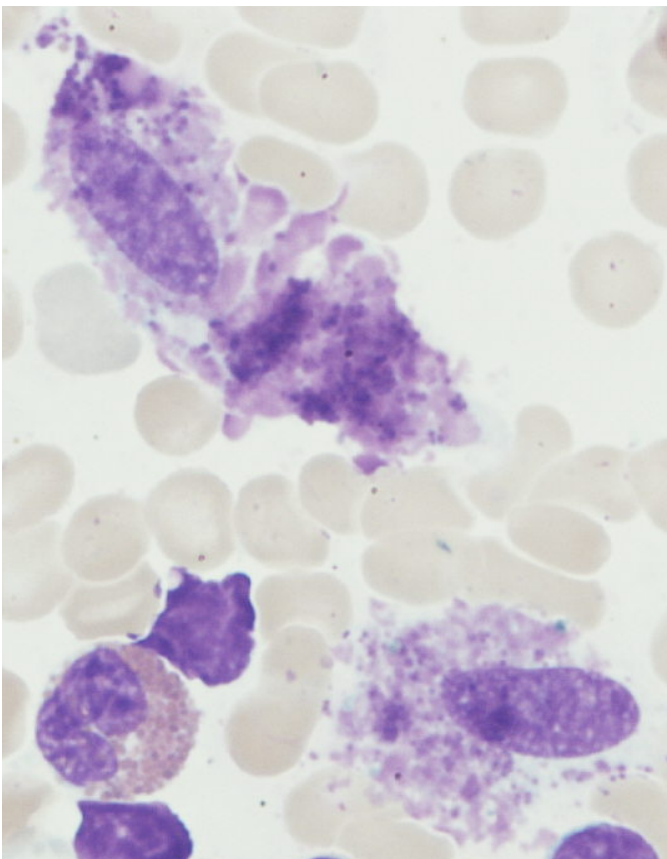


Photo 13 : Mastocytose systémique (MO) : Deux mastocytes atypiques, polynucléaire éosinophile (obj.100)

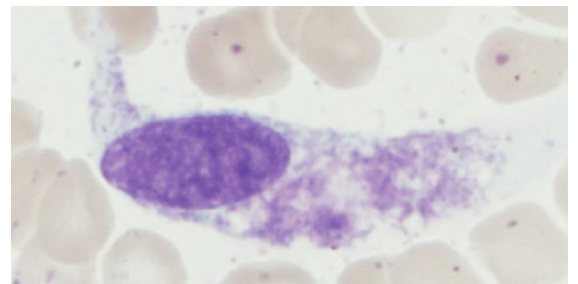


Photo 14 : Mastocytose systémique (MO) : Mastocyte fusiforme et dégranulé (obj.100)

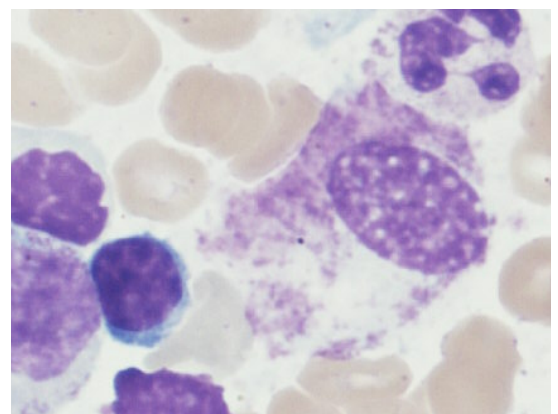


Photo 15 : Mastocytose systémique (MO) : Mastocyte dégranulé (obj.100)

Schématiquement, on retrouve 2 types de mastocytoses : les mastocytoses cutanées et les mastocytoses systémiques.

Tableau X : Les différents types de mastocytoses

| | | |
|-------------------------------|---|--------------|
| Mastocytose cutanée | | ICD-O 9740/1 |
| Mastocytose systémique | | |
| | Mastocytose systémique indolente | ICD-O 9741/1 |
| | Mastocytose médullaire pure | |
| | Mastocytose systémique mixte | |
| | Mastocytose systémique associée à une hémopathie non mastocytaire | ICD-O 9741/3 |
| | Mastocytose systémique agressive | ICD-O 9741/3 |
| | Mastocytose ganglionnaire avec hyperéosinophilie | |
| | Leucémie à mastocytes | ICD-O 9742/3 |
| | Variant classique | |
| | Variant aleucémique | |
| Autres mastocytoses | | |
| | Sarcome à mastocyte | ICD-O 9740/3 |
| | Mastocytome extra-cutané | ICD-O 9740/1 |

Le diagnostic des mastocytoses cutanées est essentiellement clinique, appuyé par la présence d'infiltrats mastocytaires vus à l'étude histologique de biopsies cutanées. Le *sarcome à mastocytes* et la *mastocytose extra-cutanée* sont extrêmement rares. Au bilan, aucun diagnostic de mastocytose ne peut être porté par le seul biologiste.

Au niveau clinique, pour 80% des mastocytoses, des signes cutanés sont mis en évidence (50% pour les seules mastocytoses systémiques). Les mastocytoses cutanées peuvent être classées dans de nombreuses entités définies par la clinique et l'anatomopathologie. Les symptômes dans les mastocytoses systémiques sont regroupés en 4 catégories :

- Les signes généraux : asthénie, perte de poids, fièvre, diaphorèse
- Les signes cutanés : prurit, urticaire, dermographisme
- Les signes généraux dus aux médiateurs mastocytaires : douleurs abdominales, troubles gastro-intestinaux, flush, syncope, maux de tête, hypotension, tachycardie, symptômes respiratoires
- Les signes musculo-squelettiques : douleurs osseuses, ostéopénie/ostéoporose, fractures, myalgies, arthralgies

Au niveau biologique, on retrouve souvent dans les mastocytoses systémiques une anémie, une hyperleucocytose, une éosinophilie, une neutropénie et une thrombopénie.

Lorsque le diagnostic de mastocytose systémique est établi, il faut utiliser des critères cliniques pour préciser le diagnostic. Pour cela, deux types de critères (B et C) utiles sont énoncés ci-dessous :

Tableau XI : Critères cliniques utiles au classement des mastocytoses systémiques

| Critères B = Pas de dysfonction organique | Critères C = Dysfonction organique |
|---|---|
| Infiltration mastocytaire > 30% sur la biopsie ostéoméduillaire et/ou taux de tryptase sérique > 200 ng/ml | Atteinte médullaire avec cytopénie(s) PNN < 1 G/L et/ou Hb < 10 g/dl et/ou plaquettes < 100 G/L |
| Signes discrets de myélodysplasie ou de myéloprolifération avec NFS normale voire subnormale | Hépatomégalie palpable avec ascite et/ou perturbation de la fonction hépatique et/ou hypertension portale |
| Hépatomégalie sans altération des fonctions hépatiques et/ou adénopathies (palpables ou vues par imagerie) et/ou splénomégalie palpable sans hypersplénisme | Lésions ostéolytiques sévères et/ou fractures pathologiques Splénomégalie palpable avec hypersplénisme Syndrome de malabsorption avec perte de poids |

2.8.1 Conclusion et synthèse

Pour l'OMS, le diagnostic de mastocytose systémique est posé si le critère majeur et 1 critère mineur ou au moins 3 critères mineurs sont retrouvés

Critère majeur :

Au niveau d'une biopsie ostéoméduillaire (ou autre biopsie d'organe extra-cutané), présence d'infiltrats de mastocytes (15 au minimum) sur plusieurs foyers.

Critères mineurs :

- Cytologique : Au niveau d'une biopsie ostéoméduillaire (ou autre biopsie d'organe extra-cutané) ou à partir d'une ponction de moelle osseuse : Présence de mastocytes à plus de 25% et/ou présence de mastocytes atypiques
- Génétique : Détection de la mutation de c-KIT (codon 816) sur moelle osseuse, sang périphérique ou organes

- Immunophénotypique : Expression de CD2 et/ou CD25 par les mastocytes de la moelle osseuse, du sang périphérique ou d'organes
- Biochimique : Persistance de la tryptase sérique supérieure à 20 ng/ml et non associée à une maladie clonale myéloïde.

Aucune recommandation de la SFH ou du RuBIH n'est publiée sur ces nouvelles entités des néoplasies myéloprolifératives. La relative rareté du diagnostic au laboratoire, le caractère obligatoire de la BOM et l'importance de la clinique en font un groupe hétérogène d'entités plus difficile à cerner dans la pratique quotidienne face aux néoplasies myéloprolifératives « majeures ».

Voici une proposition de démarches diagnostiques des mastocytoses systémiques :

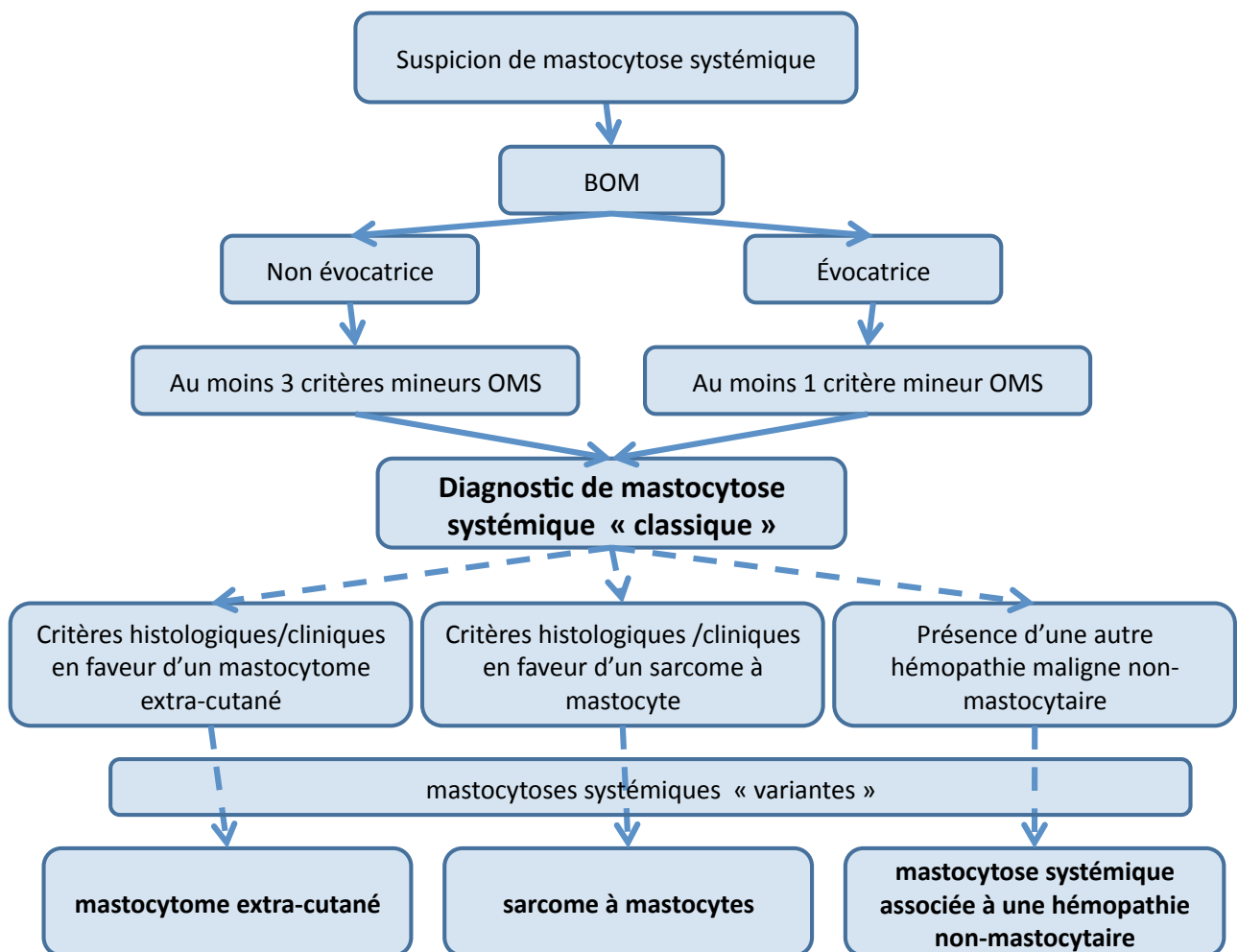


Illustration 6 : Démarche diagnostique de la mastocytose systémique

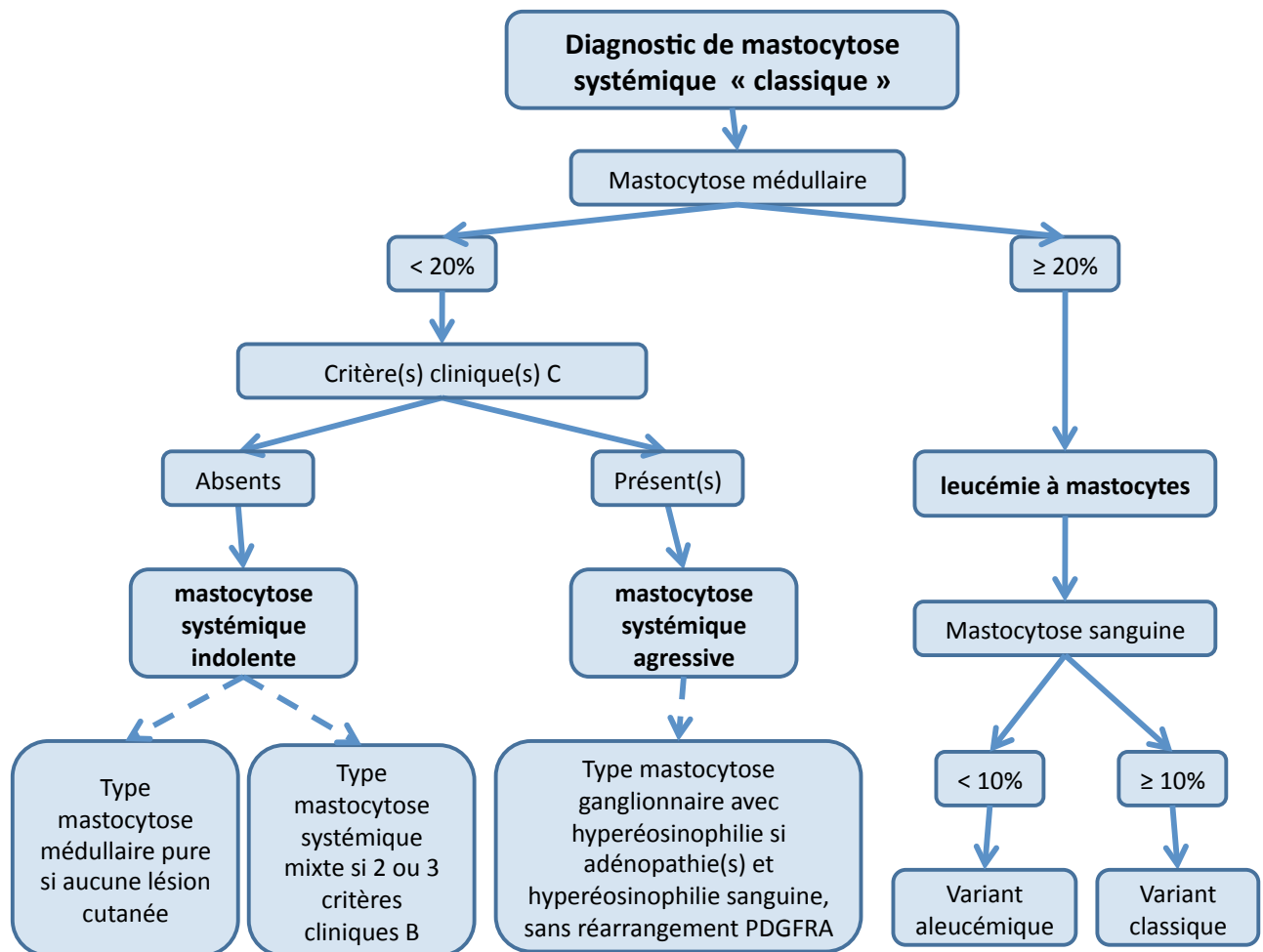


Illustration 7 : Démarche d'identification d'une mastocytose systémique "classique"

2.9 Néoplasies myéloprolifératives inclassables

ICD-O 9975/3

Le diagnostic de *néoplasie myéloproliférative inclassable* (NMP-I) est un diagnostic d'exclusion des autres néoplasies myéloprolifératives. Il peut cependant présenter des critères qui chevauchent différentes néoplasies myéloproliférative ; ces critères ne suffisant pas au diagnostic d'une entité spécifique. Environ 10 à 15% des néoplasies myéloprolifératives sont classées dans cette entité. Une réévaluation régulière du diagnostic est à privilégier.

La présence du chromosome Philadelphie, du gène de fusion BCR-ABL1, d'un réarrangement PDGFRA, PDGFRB ou FGFR1 exclut d'emblée l'appartenance à cette entité. Les mutations de JAK2 peuvent être retrouvées.

Une blastose sanguine et/ou médullaire est possible (restant inférieure à 20%). On parle de stade d'accélération de la néoplasie quand la blastose sanguine et/ou médullaire est de 10 à 19%. Une myélodysplasie peut apparaître durant la progression naturelle de la maladie.

La plupart des *néoplasies myéloprolifératives inclassables* se retrouve dans :

- Les premiers stades de la *polyglobulie primitive*, de la *myélofibrose primitive* ou de la *thrombocytémie essentielle* dont les caractéristiques ne sont pas encore complètement développées.
- Les stades avancés dans lesquels la myélofibrose, l'ostéosclérose ou la transformation à un stade plus agressif (blastose et dysplasie augmentées) masquent les caractéristiques sous-jacentes.
- La coexistence d'un syndrome inflammatoire, d'un autre syndrome néoplasique, d'un syndrome infectieux, d'une chimiothérapie ou d'une administration de facteurs de croissance, qui occulte des caractéristiques cliniques et/ou morphologiques d'une néoplasie myéloproliférative.

2.10 Démarche diagnostique devant une suspicion de néoplasie myéloproliférative

Les signes évocateurs disponibles pour le biologiste sont avant tout les informations données par la numération formule sanguine et l'étude du frottis sanguin. Le myélogramme est très souvent indiqué pour une exploration approfondie. Il peut permettre une orientation diagnostique ; le plus souvent, on retrouve :

- Une hypercellularité médullaire,
- L'absence de dystrophie significative sur les lignées myéloïdes,
- Une blastose normale ou légèrement augmentée,
- Une hématopoïèse efficace,
- La présence d'une maturation

En plus de ces éléments essentiels, l'intérêt de la biopsie ostéomédullaire est important dans le diagnostic de la *thrombocytémie essentielle* et de la *polyglobulie primitive* et incontournable dans la *myélofibrose primitive*.

Ensuite, la biologie moléculaire peut être un élément clé diagnostique. Elle permet la mise en évidence de critères souvent indispensables pour le diagnostic mais aussi pour l'exclusion d'un diagnostic.

Dans un but pratique, de manière synthétique, les deux tableaux suivants rassemblent les données de chaque néoplasie myéloproliférative sur les principales anomalies génétiques ainsi que sur les notions d'épidémiologie :

Tableau XII : Principales anomalies génétiques associées aux néoplasies myéloprolifératives

| | Biologie moléculaire | Fréquence | Cytogénétique | Fréquence |
|---------------------------------------|----------------------|---------------|--|-----------|
| Leucémie myéloïde chronique | BCR-ABL1 | 100% | Chromosome Philadelphie : t(9;22)(q34;q11.2) | 90-95% |
| | | | Extra-Ph, +8, +19, i(17q) (en phase d'accélération et blastique) | 80% |
| Leucémie neutrophile chronique | BCR-ABL1 | Absent | +8, +9, +21, del(20q), del(11q), del(12p) | 20% |
| | Mutations JAK2 | Cas rapportés | | |
| Polyglobulie de Vaquez | JAK2 V617F | > 95% | +8, +9, del(20q), del(13q), del(9p) | 20% |
| | JAK2 exon 12 | < 5% | | |
| Myélofibrose primitive | JAK2 V617F | 50% | del(20q), +1 partielle, +8,+9, délétions sur les chromosomes 5 et 7, del(13)(q12-22), der(6)t(1;6)(q21-23;p21.3) | 30% |
| | MPL W515L/K | 5% | | |
| Thrombocytémie essentielle | JAK2 V617F | 40-50% | +8, anomalies 9q, del(20q) | 5-10% |
| | MPL W515L/K | 1% | | |
| Leucémie éosinophile chronique | Mutations JAK2 | Cas rapportés | Réarrangements PDGFRA, PDGFRB et FGFR1 | Absents |
| | | | +8, i(17q) | NC |
| Mastocytose systémique | KIT D816V | > 95% | | |
| NMP inclassable | BCR-ABL1 | Absent | Réarrangements PDGFRA, PDGFRB et FGFR1 | Absents |
| | Mutations JAK2 | Cas rapportés | | |

Tableau XIII : Rappel des données épidémiologiques des néoplasies myéloprolifératives

| Néoplasies myéloprolifératives | 6-10 cas / 100 000 | Adultes 50-80 ans / cas rares chez l'enfant |
|---|--|--|
| Leucémie myéloïde chronique | 1-2 cas / 100 000 | Médiane à 50-69 ans Légère prédominance masculine |
| Leucémie neutrophile chronique | 150 cas rapportés | Adultes âgés, cas chez l'adolescent |
| Polyglobulie primitive | 0,7-2,6 cas / 100 000 | Médiane à 60 ans Second pic chez le sujet de 20 ans Légère prédominance masculine |
| Myélofibrose primitive | 0,5-1,5 cas / 100 000 | Médiane à 60-79 ans |
| Thrombocytémie essentielle | 0,6-2,5 cas / 100 000 | Médiane à 50-60 ans Second pic chez la femme de 30 ans |
| Leucémie éosinophile chronique | Non précisée | Non précisée |
| Mastocytoses | Non précisée | Formes cutanées : 50% avant 6 mois avec une légère prédominance masculine Formes systémiques : Après 30 ans avec une légère prédominance féminine |
| Néoplasie myéloproliférative inclassable | 10-15% des NMP soit 0,6-1,5 cas / 100 000 | Non précisée |

Pour conclure, une proposition de démarche devant des signes non spécifiques de néoplasies myéloprolifératives a été réalisée. Ces signes doivent faire évoquer un ou plusieurs diagnostic(s).

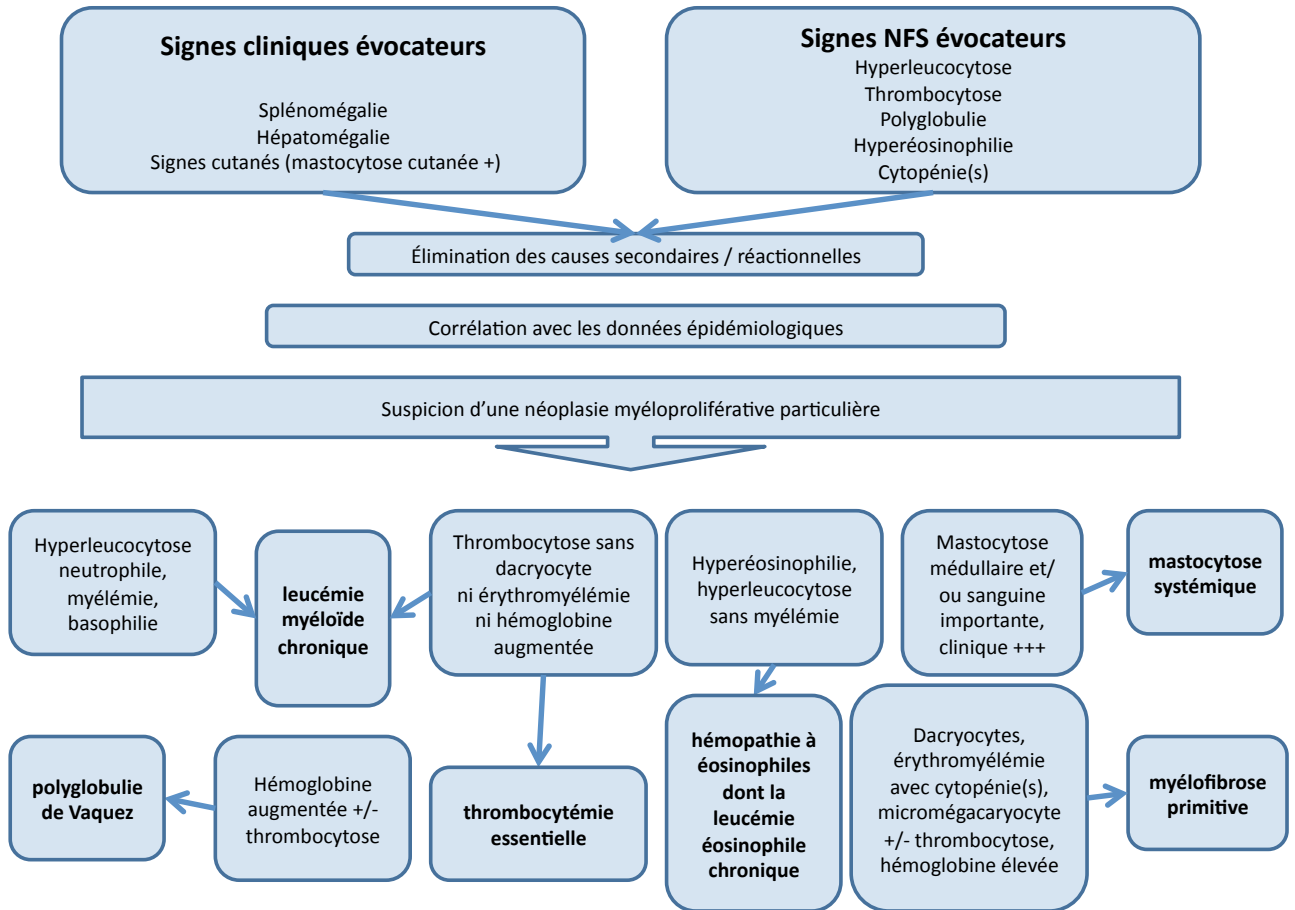


Illustration 8 : Démarche diagnostique devant une suspicion de néoplasie myéloproliférative

3 NEOPLASIES MYELOÏDES ET LYMPHOÏDES AVEC HYPEREOSINOPHILIE ET REARRANGEMENT DE PDGFRA, PDGFRB ET FGFR1

3.1 Introduction

Les néoplasies myéloïdes et lymphoïdes avec hyperéosinophilie, associées aux réarrangements PDGFRA, PDGFRB ou FGFR1 regroupent un ensemble hétérogène d'hémopathies malignes dont la caractéristique commune est la mise en évidence de l'un de ces réarrangements spécifiques. L'hyperéosinophilie est une caractéristique très fréquente, mais peut être parfois absente.

La détermination de l'origine d'une hyperéosinophilie persistante (> 1,5 G/L) dans le sang est souvent difficile et parfois urgente en raison de dommages potentiels sur le cœur, les poumons, le système nerveux central ou d'autres infiltrations éosinophiliques tissulaires. En général, les éosinophiles dérivent d'un clone néoplasique d'une hémopathie myéloïde, telle que la *leucémie éosinophile chronique*, la *leucémie myéloïde chronique* ou une leucémie aiguë myéloïde (CBF), ou bien, ils sont activés en raison d'une libération anormale de cytokines par des cellules néoplasiques T.

Dans un certain nombre de cas, la clonalité des éosinophiles ne peut être prouvée ; ces cas sont classés comme syndromes hyperéosinophiliques idiopathiques. De part le progrès de la biologie moléculaire sur cette question, il a été reconnu que de nombreux cas d'hyperéosinophilies persistantes était en réalité des néoplasies clonales causées par des anomalies des gènes qui codent les chaînes alpha ou bêta du récepteur PDGFR ou le récepteur du facteur de croissance des fibroblastes de type 1 (FGFR1).

Ce nouveau groupe, défini en grande partie par les anomalies génétiques de PDGFRA, PDGFRB et FGFR1, a été ajouté dans la classification OMS 2008. La détection de l'une de ces anomalies place une néoplasie dans cette catégorie, indépendamment de sa morphologie.

3.2 Néoplasies myéloïdes et lymphoïdes associées au réarrangement PDGFRA

ICD-O 9965/3

Au niveau cytologique, il s'agit, le plus fréquemment, d'une leucémie éosinophile chronique.

Habituellement, les patients présentent une asthénie, un prurit, des symptômes respiratoires, cardiaques ou gastro-intestinaux. La majorité d'entre-eux ont une splénomégalie et une minorité ont une hépatomégalie. Une fibrose peut toucher les muscles cardiaques et donner une cardiomégalie. Les valves cardiaques peuvent aussi être lésées et peuvent entraîner la formation d'embols. Des thromboses veineuses et artérielles ont aussi été observées. Ces néoplasies sont sensibles aux traitements par les inhibiteurs des tyrosine-kinases.

Au niveau épidémiologique, ces néoplasies peuvent survenir à tout âge. Le pic d'incidence est observé pour les 25-55 ans avec une médiane vers 40 ans. La prédominance masculine est importante avec un *sex ratio* de 17 hommes pour 1 femme.

Au niveau cytologique, on retrouve quelquefois une anémie, une thrombopénie et/ou une polynucléose neutrophile. La moelle osseuse est hypercellulaire avec une majorité de polynucléaires éosinophiles ainsi que leurs précurseurs. Une mastocytose médullaire est souvent retrouvée.

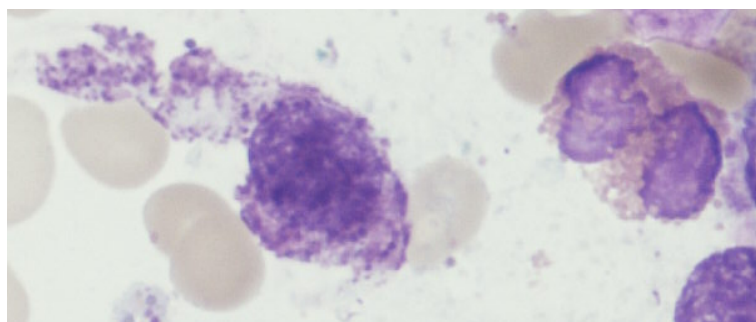


Photo 16 : Eosinophilie PDGFRA (MO) : Mastocyte et polynucléaire éosinophile atypiques (obj.100)

Des anomalies des éosinophiles peuvent être présentes, mais restent non spécifiques :

- Diverses anomalies des granulations (répartition hétérogène, granulations de petite taille, immatures, violettes avec des tâches de Romanowsky)
- Présences de vacuoles dans le cytoplasme
- Noyaux hypo- ou hypersegmentés
- Augmentation de la taille des éosinophiles

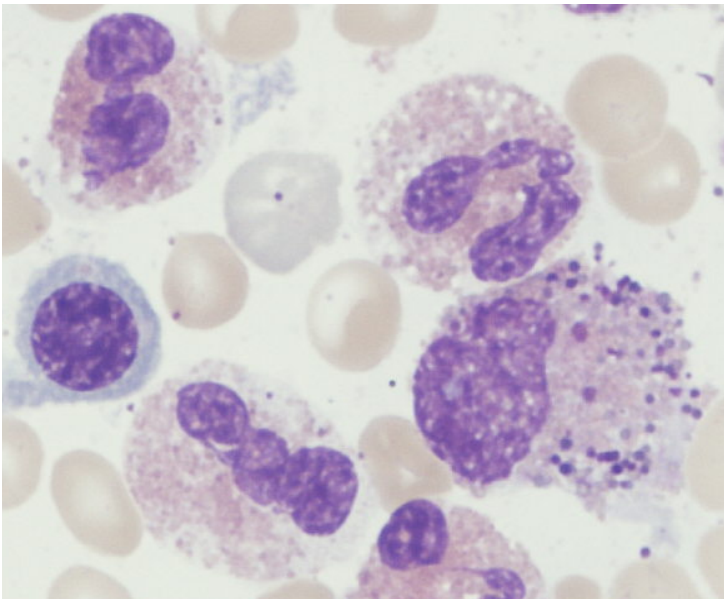


Photo 17 : Eosinophilie PDGFRA (MO) : Polynucléaires éosinophiles atypiques (vacuoles cytoplasmiques, répartition anormale des grains), un myélocyte éosinophile avec des granulations immatures violettes (tâches de Romanowsky) (obj.100)

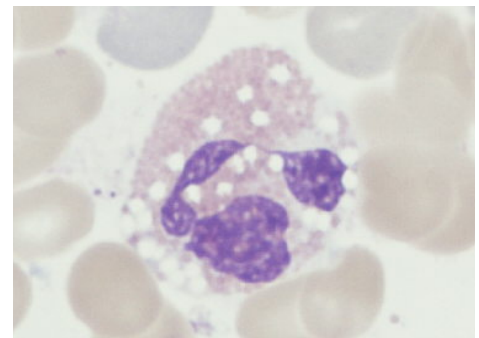


Photo 18 : Eosinophilie PDGFRA (MO) : Nombreuses vacuoles cytoplasmiques dans un polynucléaire éosinophile (obj.100)

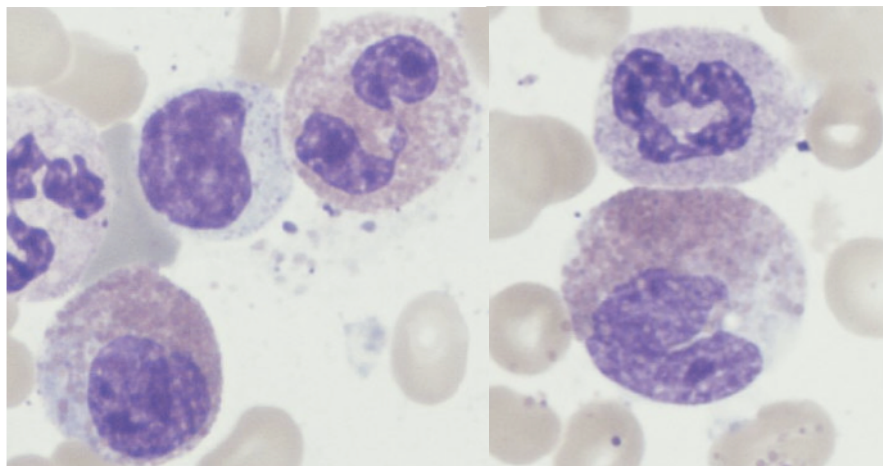


Photo 19 : Eosinophilie PDGFRA (MO) : Segmentation atypique et répartition anormale des grains dans des polynucléaires éosinophiles (obj.100)

Au niveau génétique, le gène de fusion FIP1L1-PDGFR A résultant de la délétion del(4)q(12) s'accompagne habituellement d'une analyse cytogénétique normale. Plus rarement, deux réarrangements chromosomiques sont retrouvés : t(1;4)(q44;q12) ou t(4;10)(q12;p11). L'apparition d'anomalies cytogénétiques illustre l'évolution de la maladie. Ni le chromosome Philadelphie ni le gène de fusion BCR-ABL1 sont retrouvés. Il peut exister de nombreux variants moléculaires de FIP1L1-PDGFR A. Voici quelques exemples rapportés :

- KIF5B-PDGFR A1 associé à des anomalies chromosomiques complexes impliquant les chromosomes 3, 4 et 10
- CDK5RAP2-PDGFR A1 avec ins(9;4)(q33;q12q25)
- STRN-PDGFR A1 avec t(2;4)(p24;q12)
- ETV6-PDGFR A1 avec t(4;12)(q2?3;p1?2)
- BCR-PDGFR A1 avec t(4;22)(q12;q11)

Pour faire le diagnostic, une hyperéosinophilie (presque toujours $\geq 1,5$ G/L) est retrouvée chez un patient présentant une néoplasie myéloproliférative ou plus rarement, une leucémie aiguë myéloïde, une leucémie lymphoïde ou un lymphome. De plus, on doit retrouver le gène de fusion FIP1L1-PDGFR A résultant de la délétion cryptique del(4)(q12) ou un de ses variants.

La suspicion de cette entité est forte si l'on retrouve les caractères de la *leucémie éosinophile chronique* associée à une splénomégalie, une élévation de la vitamine B12, une élévation de la tryptase sérique > 12 ng/ml et une mastocytose médullaire.

3.3 Néoplasies myéloïdes associées au réarrangement PDGFRB

ICD-O 9966/3

Ces néoplasies myéloprolifératives sont souvent accompagnées d'une hyperéosinophilie. La présentation hématologique est classiquement une *leucémie myélomonocytaire chronique* avec hyperéosinophilie. On retrouve la présence du gène de fusion ETV6-PDGFRB qui résulte de la translocation t(5;12)(q31-q33;p12).

Au niveau épidémiologique, ces néoplasies touchent deux fois plus les hommes que les femmes. L'âge médian du diagnostic est compris entre 40 et 50 ans. Mais le diagnostic est fait à tout âge (8-72 ans).

Au niveau cytologique, on retrouve une hyperleucocytose pouvant être associée à une anémie et une thrombopénie. Dans la formule leucocytaire, on observe une augmentation variable des neutrophiles, des éosinophiles et des monocytes. Plus rarement, il y a une basophilie. Dans la moelle osseuse, on observe une hypercellularité due aux lignées neutrophile et éosinophile. Ces dernières présentent des dystrophies. En phase chronique les blastes sont inférieurs à 20% dans le sang périphérique et dans la moelle osseuse.

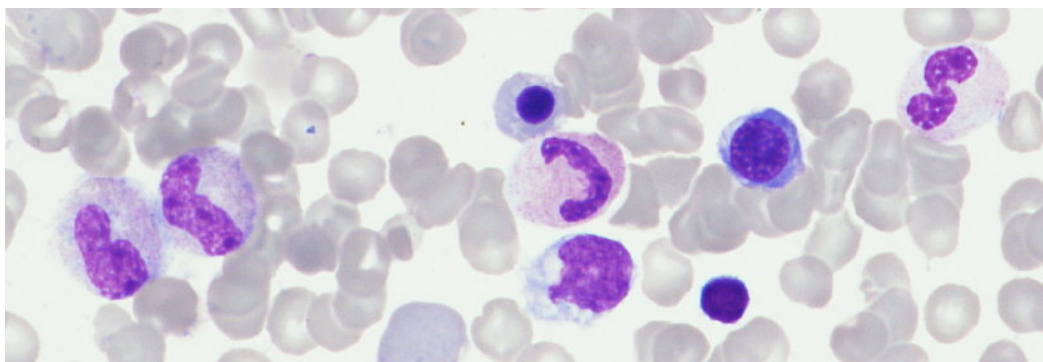


Photo 20 : Néoplasie avec PDGFRB (MO) : Monocytose et lignée neutrophile dystrophique (hypogranularité, hyposegmentation nucléaire) (obj.50)

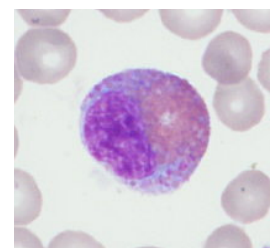


Photo 21 : Néoplasie avec PDGFRB (MO) : Myélocyte éosinophile atypique (obj.50)

Au niveau clinique, la splénomégalie est souvent présente ; l'hépatomégalie est plus rare. Des patients ont une infiltration cutanée et une atteinte cardiaque. La tryptase sérique est modérément élevée. Ces néoplasies sont sensibles aux traitements par les inhibiteurs des tyrosine-kinases.

Les caractéristiques hématologiques de ces entités sont hétérogènes. Elles peuvent se présenter comme une LMMC (le plus fréquemment) mais aussi comme une *leucémie éosinophile chronique*, une *leucémie myéloïde chronique atypique*. Cette hétérogénéité cytologique s'explique par l'existence de nombreux variants moléculaires du gène de fusion ETV6-PDGFRB, du fait de points de cassure différents.

Des variants se présentent comme la forme classique de LMMC (LMMJ pour le dernier item) :

- HIP-PDGFRB associé à la translocation t(5;7)(q33;q11.2)
- KIAA1509-PDGFRB associé à la translocation t(5;14)(q33;q32)
- NDE1-PDGFRB associé à la translocation t(5;16)(q33;p13)
- RABEP1-PDGFRB associé à la translocation t(5;17)(q33;p13)
- SPECC1-PDGFRB associé à la translocation t(5;17)(q33;p11.2)

Certains variants se présentent comme une *leucémie éosinophile chronique* :

- WDR48-PDGFRB associé à la translocation t(1;3;5)(p36;p21;q33)
- GPIAP1-PDGFRB associé à der(1)t(1;5)(p34;q33) ou der(5)t(1;5)(p34;q15) ou der(11)ins(11;5)(p12;q15q33)
- TPM3-PDGFRB associé à la translocation t(1;5)(q21;q33)
- GIT2-PDGFRB associé à la translocation t(5;12)(q31-q33;q24)

D'autres variants se présentent sous diverses formes cytologiques :

- PDE4DIP-PDGFRB associé à la translocation t(1;5)(q23;q33) sous la forme d'une néoplasie myélodysplasique myéloproliférative avec hyperéosinophilie
- PRKG2-PDGFRB associé à la translocation t(4;5;5)(q23;q31;q33) sous la forme d'une leucémie basophile chronique
- GOLGA4-PDGFRB associé à la translocation t(3;5)(p21-25;q31-35)
- CCDC6-PDGFRB associé à la translocation t(5;10)(q33;q21) sous la forme d'une *leucémie myéloïde chronique atypique* ou d'un syndrome myéloprolifératif avec hyperéosinophilie
- NIN-PDGFRB associé à la translocation t(5;14)(q33;q24) sous la forme d'une leucémie myéloïde chronique Phi-négative avec hyperéosinophilie

- TP53BP1-PDGFRB associé à la translocation t(5;15)(q33;q22) sous la forme d'une leucémie myéloïde chronique Phi-négative avec hyperéosinophilie majeure

Pour faire le diagnostic, on doit retrouver une cytologie en faveur d'une néoplasie myéloproliférative et la présence de la translocation t(5;12)(q31-q33;p12) ou la détection du gène de fusion ETV6-PDGFRB ou la détection d'un variant.

3.4 Néoplasies myéloïdes et lymphoïdes associées aux anomalies de FGFR1

ICD-O 9967/3

Ces néoplasies myéloprolifératives sont hétérogènes. Il peut s'agir de néoplasies myéloprolifératives, éventuellement en transformation voire d'une leucémie aiguë myéloïde ou d'une leucémie/lymphome lymphoblastique T ou B, habituellement associées à une hyperéosinophilie.

Au niveau épidémiologique, cette hémopathie peut survenir à tout âge (3-84 ans), mais le plus fréquemment chez le sujet jeune avec une médiane à 32 ans. Contrairement aux néoplasies associées aux réarrangements PDGFRA et PDGFRB, la prédominance masculine est modérée (1,5:1).

Au niveau clinique, les symptômes dépendent du type de la néoplasie. Les adénopathies sont fréquentes dans les formes lymphomateuses et la splénomégalie est fréquente dans les néoplasies myéloprolifératives. Les symptômes systémiques communs sont la fièvre, la perte de poids et les sueurs nocturnes.

La présentation morphologique peut être très diverse (*leucémie éosinophile chronique*, leucémie aiguë myéloïde, leucémie/lymphome lymphoblastique T ou B voire de lignée ambiguë). Lorsque la présentation est celle d'une leucémie éosinophile chronique, il peut y avoir une transformation en leucémie aiguë myéloïde (incluant le *sarcome myéloïde*), leucémie/lymphome lymphoblastique B ou T ou leucémie aiguë biphénotypique.

Dans l'ensemble, près de 90% des patients ont une hyperéosinophilie sanguine ou médullaire. Les patients en phase chronique ont habituellement une hyperéosinophilie, une polynucléose neutrophile et occasionnellement une monocytose.

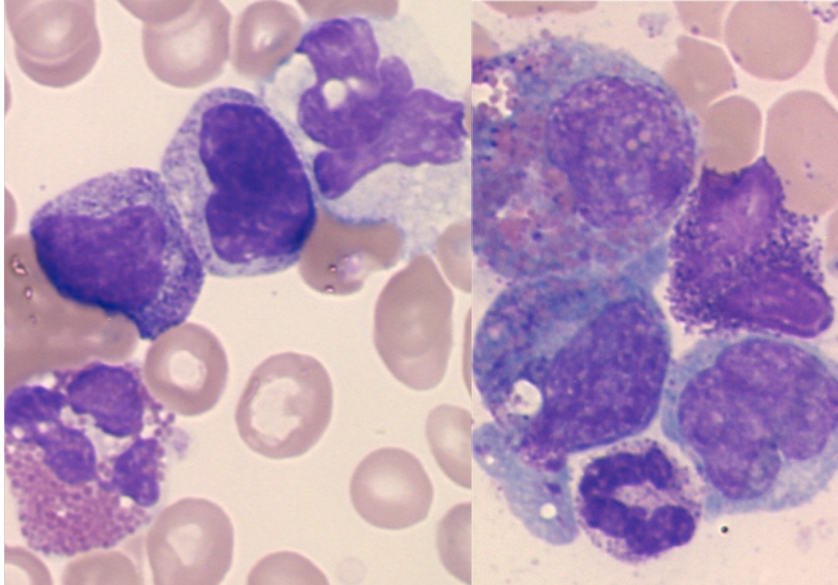


Photo 22 : Néoplasie avec *FGFR1* : Hyperéosinophilie et monocytose (obj.100)

La basophilie n'est pas commune sauf pour les cas avec le gène de fusion *BCR-FGFR1*. En association avec la *polyglobulie primitive*, le gène de fusion *FGFR1OP1-FGFR1* a été mis en évidence pour trois patients.

Au niveau génétique, la présence de la translocation $t(8;13)(p11;q12)$ associée au gène de fusion *ZNF198-FGFR1* est caractéristique. D'autres réarrangements de *FGFR1*, plus rares, sont mentionnés :

- $t(8;9)(p11;q33)$ associée au gène de fusion *CEP110-FGFR1*
- $t(6;8)(q27;p11-12)$ associée au gène de fusion *FGFR1OP1-FGFR1*
- $t(8;22)(p11;q11)$ associée au gène de fusion *BCR-FGFR1*
- $t(7;8)(q34;p11)$ associée au gène de fusion *TRIM24-FGFR1*
- $t(8;17)(p11;q23)$ associée au gène de fusion *MYO18A-FGFR1*
- $t(8;19)(p12;q13.3)$ associée au gène de fusion *HERVK-FGFR1*
- $ins(12;8)(p11;p11p22)$ associée au gène de fusion *FGFR1OP2-FGFR1*

Pour faire le diagnostic, on doit retrouver une néoplasie myéloproliférative associée à une hyperéosinophilie majeure et quelquefois une polynucléose neutrophile ou une monocytose.

En l'absence d'une néoplasie myéloproliférative, on peut retrouver une leucémie aiguë myéloïde ou une leucémie/lymphome lymphoblastique T ou B, souvent associée à une hyperéosinophilie périphérique ou médullaire.

De plus, il faut la présence de la translocation $t(8;13)(p11;q12)$ ou d'un autre réarrangement de FGFR1.

3.5 Conclusion et synthèse

Ces nouvelles entités, morphologiquement hétérogènes, se basent sur l'étude génétique. Les examens de cytogénétique et de biologie moléculaire sont les éléments nécessaires et suffisants pour établir le diagnostic. L'hyperéosinophilie quasi-constante, les aspects morphologiques, les éléments cliniques n'ont qu'une valeur d'orientation. Il n'existe pas de référentiel SFH ni RuBIH pour ce nouveau groupe.

Les causes d'hyperéosinophilie sont très diverses et la cause maligne en hématologie est rare par rapport aux autres étiologies. De plus, l'hyperéosinophilie est retrouvée dans de nombreuses hémopathies myéloïdes autres que la *leucémie éosinophile chronique* ou les néoplasies liées aux réarrangements PDGFRA, PDGFRB et FGFR1. Au final, un classement dans l'une de ces entités reste un diagnostic d'exclusion. En conclusion, une démarche diagnostique face à une hyperéosinophilie persistante est proposée :

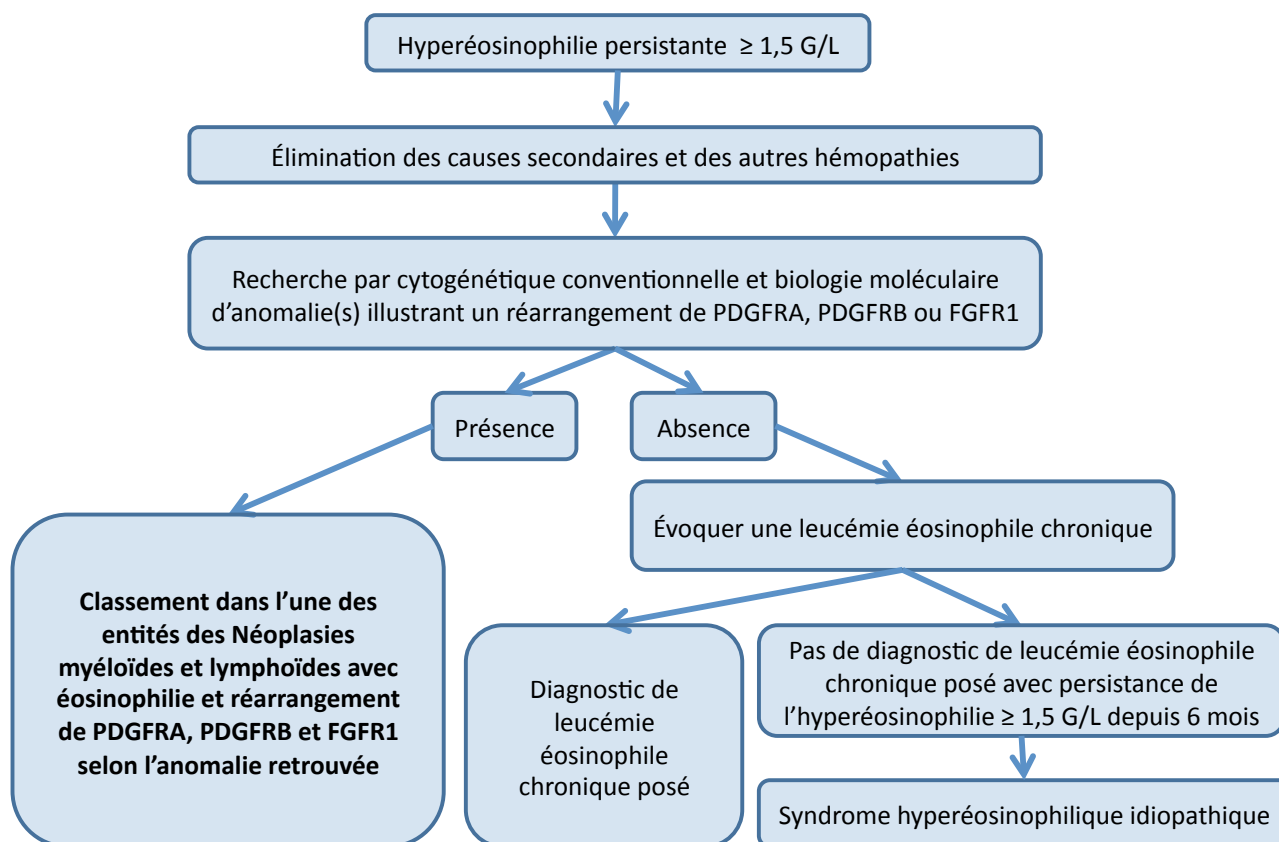


Illustration 9 : Démarche diagnostique des néoplasies myéloprolifératives hyperéosinophiliques

4 NEOPLASIES MYELOYDYSPLASIQUES MYELOPROLIFERATIVES

4.1 Introduction

Les néoplasies myélodysplasiques myéloprolifératives, anciennement nommées syndromes mixtes ou syndromes frontières peuvent s'écrire de manière courte SMD/NMP. Ce sont des néoplasies myéloïdes clonales qui, au moment du diagnostic, présentent des caractéristiques morphologiques compatibles avec un syndrome myélodysplasique et une néoplasie myéloproliférative.

Elles sont généralement caractérisées par une hypercellularité de la moelle osseuse liée à la prolifération d'une ou plusieurs lignées myéloïdes. Souvent, l'hématopoïèse est efficace avec une augmentation du nombre de cellules dans une ou plusieurs lignée(s) qui peuvent être morphologiquement dysplasiques. Aussi, une ou plusieurs lignée(s) sont cytopéniques. Le pourcentage de blastes dans la moelle osseuse et dans le sang est toujours inférieur à 20%. Au niveau clinique, l'hépatosplénomégalie est fréquente.

Les patients présentant une NMP peuvent présenter secondairement des dysplasies myéloïdes, que ce soit dans le cadre de l'histoire naturelle de leur maladie ou après une chimiothérapie. Dans ces cas là, on ne doit pas les classer dans ce groupe.

Les patients présentant le gène de fusion BCR-ABL1 ou un réarrangement de PDGFRA ne doivent pas être catégorisés dans les SMD/NMP. Les cas de LMMC avec des réarrangements de PDGFRB sont également exclus.

Compte tenu de l'absence de toute anomalie génétique spécifique, ces entités « frontières » illustrent le chevauchement qui peut survenir entre les SMD et les NMP. De plus, le classement de l'entité provisoire, *l'anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne et thrombocytose*, est discuté. En effet, la majorité des cas (50-60%) ont la mutation JAK2 V617F. Ce caractère est plutôt en faveur d'une néoplasie myéloproliférative. Mais la présence, d'emblée, de signes myélodysplasiques majeurs comme les sidéroblastes en couronne illustre le caractère mixte de cette entité.

4.1.1 Principaux changements par rapport à l'édition 2001

- Certains cas de LMMC avec hyperéosinophilie sont déplacés dans la catégorie « *néoplasies myéloïdes avec un réarrangement PDGFRB* ».
- L'entité « *LMC atypique* » a été renommée comme « *LMC atypique, BCR-ABL1 négative* ». Il ne s'agit pas d'une variante de LMC.
- *L'anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne et thrombocytose* reste une entité provisoire, classée dans les *SMD/NMP inclassables*, jusqu'à ce que de nouvelles données changent son classement. Les critères diagnostiques ont été modifiés.
- Le seuil de plaquettes a été abaissé de 600 à 450 G/L. Les mégacaryocytes ont une morphologie similaire à ceux observés dans la TE ou la MP.

4.2 Leucémie myélomonocytaire chronique

ICD-O 9945/3

La *leucémie myélomonocytaire chronique* (LMMC) est une hémopathie clonale qui présente à la fois des caractéristiques des néoplasies myélodysplasiques et myéloprolifératives.

Au niveau épidémiologique, une étude estime l'incidence de la LMMC à 31% des cas des syndromes myélodysplasiques, soit 4 cas pour 100 000 personnes chaque année. L'âge médian du diagnostic est compris entre 65 et 75 ans. Il existe une prédominance masculine avec 1,5 à 3 hommes pour 1 femme atteinte.

Pour la majorité des patients, il y a une hyperleucocytose au diagnostic et la maladie apparaît comme une néoplasie myéloproliférative atypique. Les signes cliniques les plus fréquemment rencontrés sont l'asthénie, la perte de poids, la fièvre et les sueurs nocturnes, des infections, des saignements. Une splénomégalie et une hépatomégalie sont parfois retrouvées, souvent dans les cas hyperleucocytaires. Les adénopathies sont peu fréquentes et sont souvent associées à une transformation.

La monocytose périphérique est la caractéristique de la LMMC. Elle doit être documentée par plusieurs bilans successifs. Par définition, elle est toujours supérieure à 1 G/L, mais en pratique elle est comprise entre 2 et 5 G/L et peut monter jusqu'à 80 G/L. Les monocytes représentent souvent plus de 10% des leucocytes. C'est une des rares situations où une valeur relative (%) peut être considérée. Au niveau morphologique, les monocytes sont matures, sans particularité. Certains peuvent présenter des granulations anormales, des lobulations nucléaires ou une texture chromatinienne inhabituelle.

Les leucocytes peuvent être normaux ou légèrement diminués avec neutropénie. Cependant, dans près de la moitié des cas, il y a une hyperleucocytose due à la monocytose mais aussi à une polynucléose neutrophile. Une myélémie est habituellement présente (< 10% des leucocytes). Normalement, le nombre des éosinophiles est normal voire légèrement augmenté.

Dans le cas où il y a une hyperéosinophilie $\geq 1,5$ G/L, on est en présence d'une LMMC avec hyperéosinophilie. Dans ce cas, la recherche des anomalies moléculaires et/ou cytogénétiques sur les gènes PDGFRA et PDGFRB est indispensable. Si ces anomalies sont retrouvées, l'entité sera classée dans la famille des « *néoplasies myéloïdes et lymphoïdes avec hyperéosinophilie, associées aux réarrangements PDGFRA, PDGFRB ou FGFR1* ». Au niveau clinique, des complications peuvent apparaître. Ceci est lié à la dégranulation des polynucléaires éosinophiles.

Une anémie et une thrombopénie modérée sont souvent retrouvées. L'anémie est plutôt normocytaire et quelquefois macrocytaire. Une anisocytose plaquettaire est parfois observée.

Dans la moelle osseuse, le compte des blastes n'atteint pas 20%. Il comprend les myéloblastes, les monoblastes mais aussi les promonocytes. Ce compte n'est pas toujours aisé.

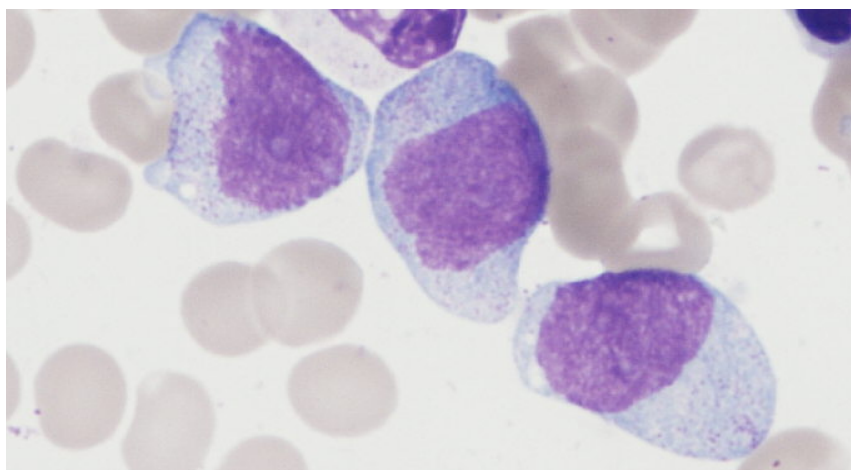


Photo 23 : LMMC (MO) : Trois promonocytes (obj.100)

Deux catégories de LMMC sont à différencier :

- LMMC type 1 : Blastose périphérique < 5% et blastose médullaire < 10%
- LMMC type 2 : Blastose périphérique 5-19% et/ou blastose médullaire 10-19% et/ou présence de corps d'Auer

Les dysplasies touchent souvent plusieurs lignées myéloïdes. Une dysgranulopoïèse est souvent retrouvée, plutôt observée pour les patients avec hyperleucocytose (hypogranularité, plus rarement hypergranularité, hypolobulation ou segmentation anormale du noyau).

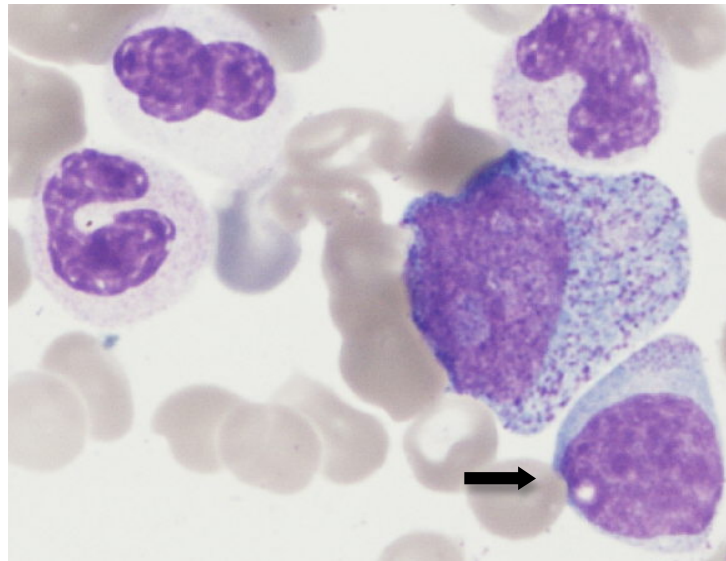


Photo 24 : LMMC (MO) : Dysgranulopoïèse (la flèche désigne un monocyte avec anomalie chromatinienne) (obj.100)

Une dysmégacaryopoïèse est présente chez plus de 80% des patients (micromégacaryocytes, anomalies de la lobulation nucléaire). Une dysérythropoïèse est présente dans plus de la moitié des cas (signes « pseudo-mégaloblastiques», irrégularités nucléaires, sidéroblastes en couronne).

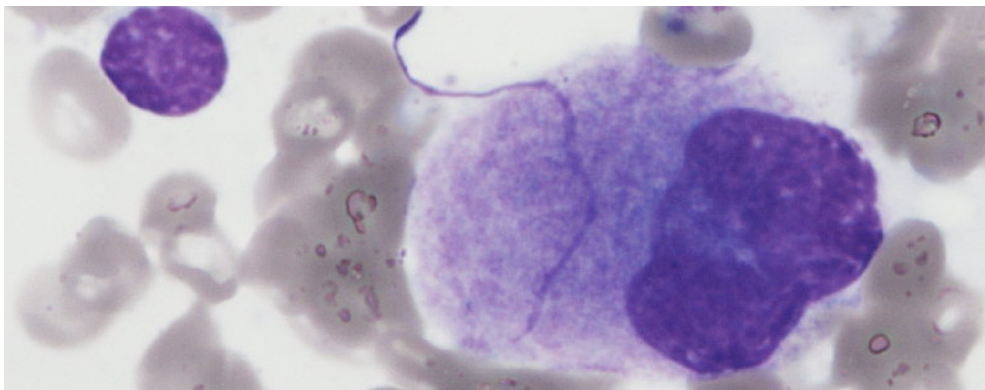


Photo 25 : LMMC (MO) : Dysmégacaryopoïèse (mégacaryocyte de petite taille, hypolobés) (obj.100)

Au niveau cytogénétique et biologie moléculaire, les anomalies cytogénétiques sont fréquentes (20-40%), mais restent non spécifiques. La mutation JAK2 V617F est rare mais possible. Les anomalies les plus fréquentes sont la trisomie 8, del(7q) et les anomalies récurrentes touchant le bras court du chromosome 12.

Pour l’OMS, le diagnostic de la *leucémie myélomonocytaire chronique* est posé si ces 5 critères diagnostiques sont retrouvés :

- Monocytose sanguine persistante > 1 G/L
- Absence du chromosome Philadelphie et du gène de fusion BCR-ABL1
- Absence de réarrangement de PDGFRA et PDGFRB
- Présence de moins de 20% de blastes dans le sang périphérique et dans la moelle osseuse (incluant les myéloblastes, monoblastes et promonocytes)
- Dysplasie sur une lignée myéloïde minimum

Ou si l’on ne retrouve pas de myélodysplasie ou qu’elle est non significative, toutes les autres causes de monocytoses devront être écartées. De plus, un de ces critères doit être retrouvé :

- Présence d’un clone cytogénétique
- Détection d’une anomalie génétique sur des cellules hématopoïétiques
- Monocytose persistante depuis plus de 3 mois

4.3 Leucémie myéloïde chronique atypique

ICD-O 9876/3

La *LMC atypique*, BCR-ABL1 négative, est une hémopathie maligne myéloïde avec myélodysplasie et présentant des caractéristiques myéloprolifératives au moment du diagnostic.

Elle se caractérise principalement par une hyperleucocytose due à l’hyperplasie de la lignée neutrophile. Morphologiquement, les polynucléaires neutrophiles, ainsi que leurs précurseurs,

présentent des dysplasies. Souvent, les autres lignées myéloïdes sont aussi dysplasiques. Le gène de fusion BCR-ABL1 est toujours absent. De nombreux cas de syndromes de la condensation anormale de la chromatine peuvent être considérés comme des variants de la *leucémie myéloïde chronique atypique*.

L'incidence exacte n'est pas connue, mais on compte 1 à 2 cas pour 100 cas de *leucémie myéloïde chronique*. En reprenant les données épidémiologiques de la *leucémie myéloïde chronique*, cela fait environ 1 à 4 cas pour 100 000 personnes, par an. L'âge médian du diagnostic est compris entre 70 et 90 ans. Le rapport homme/femme est équilibré.

Le principal signe clinique rapporté est la splénomégalie. D'autres symptômes causés par l'anémie et quelquefois par la thrombopénie sont mentionnés.

Dans le sang périphérique, l'hyperleucocytose est constante, toujours supérieure à 13 G/L, avec une médiane de valeurs comprises entre 24 et 96 G/L, pouvant monter à plus de 300 G/L. La blastose est habituellement inférieure à 5% et toujours inférieure à 20%. Les précurseurs neutrophiles comptent pour plus de 10-20% des leucocytes. Une monocytose est possible mais presque toujours inférieure à 10% des leucocytes. Une anémie modérée et une thrombopénie sont fréquemment retrouvées, respectivement dans 30% et 50% des cas.

La moelle osseuse est hypercellulaire du fait de l'hyperplasie neutrophile. La blastose médullaire peut être augmentée, mais toujours inférieure à 20%. La richesse en mégacaryocytes est variable et on retrouve souvent des dystrophies sur cette lignée (micromégacaryocytes, mégacaryocytes hypolobés ou monolobés). La dysérythropoïèse est présente dans la moitié des cas. La dysgranulopoïèse est constante, souvent prononcée avec des anomalies de la segmentation (jusqu'au noyau pseudo-Pelger-Huët), avec des anomalies de granulation cytoplasmique. De façon non rare, la dysgranulopoïèse peut revêtir des aspects inhabituels, comme un cytoplasme hypergranuleux, des anomalies de segmentation nucléaire voire de type pseudo-mégaloblastiques.

Au niveau cytogénétique, plus de 80% des patients présentent des caryotypes anormaux. Les plus fréquentes des anomalies cytogénétiques sont la trisomie 8 et la délétion 20q. Des anomalies touchant les chromosomes 13, 14, 17, 19 et 12 sont aussi rapportées. On ne retrouve pas le gène de fusion BCR-ABL1, ni de réarrangement PDGFRA, PDGFRB. Par contre, la mutation JAK2 V617F et le réarrangement PCM1-JAK2 résultant de la translocation t(8;9)(p22;p24) ont été rapportés dans quelques cas. Près de 30% des cas présentent une mutation NRAS ou KRAS.

Pour l’OMS, le diagnostic de *leucémie myéloïde chronique atypique* est posé si ces 9 critères diagnostiques sont retrouvés :

- Hyperleucocytose ≥ 13 G/L (due à l’hyperplasie neutrophile)
- Dysgranulopoïèse +/- dysplasies des lignées érythrocytaire et mégacaryocytaire
- Moelle osseuse hypercellulaire due à la prolifération granulocytaire
- Absence de chromosome Philadelphie et du gène de fusion BCR-ABL1
- Absence de réarrangement de PDGFRA et PDGFRB
- Précurseurs neutrophiles représentent au minimum 10% des leucocytes
- Basophilie présente mais habituellement $< 2\%$ des leucocytes
- Monocytose possible mais habituellement $< 10\%$ des leucocytes
- Blastose sanguine et médullaire $< 20\%$

4.4 Leucémie myélomonocytaire juvénile

ICD-O 9946/3

La *leucémie myélomonocytaire juvénile* (LMMJ) est une hémopathie maligne myéloïde de l’enfant (0-14 ans) qui se caractérise principalement par une prolifération granulocytaire et monocytaire. La blastose sanguine et médullaire est toujours inférieure à 20% (en incluant les promonocytes). Les dysplasies myéloïdes sont fréquentes mais pas toujours d’une manière significative. Au niveau génétique, le gène de fusion BCR-ABL1 est absent tandis que les gènes de la voie de signalisation RAS/MAPK présentent des mutations.

L’incidence est estimée à 1,3 pour 1 000 000 d’enfants de 0 à 14 ans, chaque année. Cela représente environ 2 à 3% de toutes les leucémies chez l’enfant, mais 20-30% de tous les cas de syndromes myélodysplasiques et des néoplasies myéloprolifératives infantiles. L’âge de diagnostic est inférieur à 3 ans dans 75% des cas. Il y a une prédominance masculine (2 garçons pour 1 fille). Environ 10% des cas de diagnostic clinique de la *neurofibromatose de type 1* (NF-1) présentent une LMMJ. Contrairement à l’adulte, l’enfant avec une NF1 présente 200 à 500 fois

plus de risque de développer une hémopathie myéloïde, principalement la LMMJ. Parfois, des enfants atteints du syndrome de Noonan développent une hémopathie de type LMMJ-like.

Au niveau clinique, la plupart des patients présentent des symptômes constitutionnels ; des signes infectieux mimant des infections à EBV, CMV, HHV6. Une hépatosplénomégalie est généralement présente. Environ la moitié des patients présente des adénopathies. L'infiltration leucémique peut toucher les amygdales, les poumons. Des saignements, des rashes cutanés (par une infiltration superficielle) sont aussi rapportés. Ainsi, l'atteinte cutanée, présente dans plus de la moitié des cas, est une particularité non observée dans les LMMC.

Contrairement aux adultes, l'augmentation de la synthèse d'hémoglobine fœtale (HbF) dans la LMMJ est une caractéristique remarquable. Elle est souvent associée à un caryotype normal. La détection d'une hypergammaglobulinémie polyclonale et la présence d'auto-anticorps sont mentionnées. Des cultures cellulaires peuvent être nécessaires pour éliminer des infections de la famille des *Herpesviridae*. *In vitro*, les précurseurs myéloïdes sont hypersensibles au facteur de croissance GM-CSF.

Dans le sang périphérique, on retrouve généralement une hyperleucocytose qui varie entre 25 et 30 G/L, mais rarement supérieure à 100 G/L. Elle est due à une augmentation de la lignée neutrophile et aussi, parfois, de la lignée monocyttaire. Une thrombopénie, quelquefois sévère, et une anémie sont fréquemment rencontrées. Une éosinophilie et une basophilie sont rarement retrouvées. La présence d'érythroblastes est fréquente. La taille des globules est variable, mais une macrocytose peut être observée, surtout s'il y a une monosomie du chromosome 7. Une microcytose par carence martiale ou causée par un syndrome thalassémique acquis est aussi possible. Finalement, la normocytose est plus habituelle.

La moelle osseuse n'apporte aucun critère formel au diagnostic. Cependant, son aspect peut être évocateur. Elle est hypercellulaire, avec une hyperplasie granuleuse ; plus rarement on observe une hyperplasie de la lignée rouge. Les monocytes représentent généralement 5 à 10% des cellules nucléées de la moelle. La blastose sanguine et médullaire est habituellement inférieure à 5% et toujours inférieure à 20%. De plus, les corps d'Auer ne sont jamais observés.

La dysgranulopoïèse souvent minime peut, quelquefois, être significative : segmentation nucléaire anormale voire des aspects pseudo-Pelger-Huët, hypogranularité. Les mégacaryocytes sont souvent peu nombreux et la dysmégacaryopoïèse est rarement marquée.

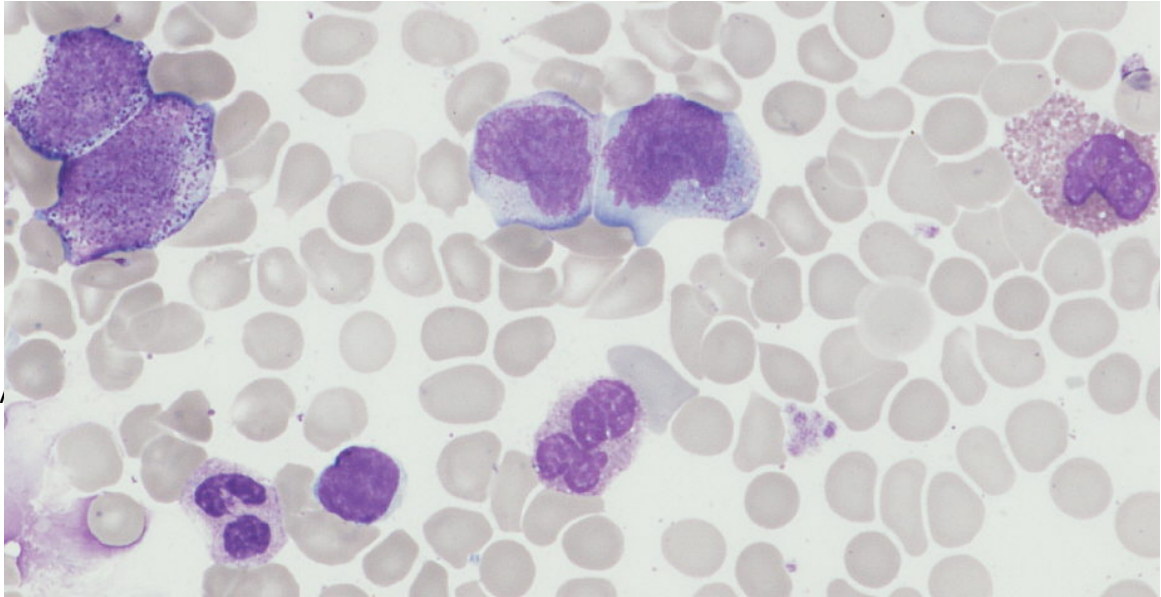


Photo 26 : LMMJ (MO) : Deux promonocytes (au centre), dysgranulopoïèse minime (obj.50)

Au niveau cytogénétique, 35% des patients présentent des caryotypes anormaux. La plus fréquente des anomalies cytogénétiques est la monosomie du chromosome 7, pour 25% des cas. Toutes les autres anomalies représentent les 10% restant.

Le gène de fusion BCR-ABL1 et le chromosome Philadelphie ne sont pas retrouvés. Il est évident que les mutations de gène régulant la voie de signalisation RAS/MAPK sont impliquées, au moins partiellement. Les mutations du gène PTPN11 sont révélées dans 35% des cas. Les mutations des gènes RAS (NRAS, KRAS2) et NF-1 représentent chacun 20% des cas. A noter que les enfants atteints du syndrome de Noonan portent des mutations de PTPN11.

Pour l'OMS, le diagnostic de *leucémie myélomonocytaire juvénile* (chez l'enfant de 0 à 14 ans) est posé si les 3 critères majeurs et au moins 2 critères mineurs sont retrouvés

Critères majeurs :

- Monocytose périphérique > 1 G/L
- Blastose sanguine et médullaire < 20% (en incluant les promonocytes)
- Absence du chromosome Philadelphie et du gène de fusion BCR-ABL1

Critères mineurs :

- Augmentation de l'HbF, selon l'âge (voir tableau ci-dessous)
- Présence d'une myélémie
- Hyperleucocytose > 10 G/L
- Anomalie chromosomique clonale
- Hypersensibilité des progéniteurs myéloïdes au GM-CSF *in vitro*

Tableau XIV : Taux d'hémoglobine fœtale normal en fonction de l'âge [14]

| Age | Taux maximum d'HbF |
|-----------|--------------------|
| Naissance | 80% |
| 1 semaine | 70% |
| 1 mois | 55% |
| 2 mois | 40% |
| 4 mois | 15% |
| > 6 mois | 2% |

L'hémoglobine fœtale, majoritaire à la naissance décroît rapidement pour atteindre un taux bas dès l'âge de 6 mois.

Des causes congénitales et acquises peuvent aussi expliquer une élévation anormale du taux d'hémoglobine fœtale : persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale, β -thalassémie, drépanocytose, anémies, myélofibrose, néoplasies autres que la LMMJ.

4.5 Néoplasie myélodysplasique myéloproliférative inclassable

ICD-O 9975/3

Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne et thrombocytose

ICD-O 9982/3

Cette entité regroupe un ensemble hétérogène de néoplasies présentant des caractères de myélodysplasie et de myéloprolifération et n'ayant pas de critère suffisant pour être classées dans les trois autres entités de cette famille des néoplasies myélodysplasiques myéloprolifératives.

Il est important de ne pas classer ici les néoplasies myéloprolifératives connues qui évoluent vers une forme plus agressive avec l'apparition tardive de signes de dysplasies myéloïdes.

Au niveau cytologique, on doit retrouver des signes de myéloprolifération et de myélodysplasie sur, au minimum, une lignée myéloïde différente. Les signes myéloprolifératifs peuvent être une thrombocytose supérieure ou égale à 450 G/L ou une hyperleucocytose supérieure ou égale à 13 G/L.

L'anémie, de sévérité variable, est habituellement retrouvée. Elle peut être macrocytaire avec des anomalies sur les globules rouges. La blastose n'excède jamais 20%, mais est supérieure ou égale à 10%. Elle illustre un passage vers une forme plus agressive.

Au niveau génétique, la présence du gène de fusion BCR-ABL1, de réarrangement PDGFRA, PDGFRB et FGFR1 ou de la délétion isolée del(5q) est incompatible avec cette entité. Les mutations de JAK2 V617F ou MPL W515K/L ont été rapportées.

Pour l'OMS, le préalable est l'absence de critères suffisants pour un classement dans l'un des syndromes myélodysplasiques, l'une des néoplasies myéloprolifératives ou l'une des autres néoplasies myélodysplasique myéloproliférative. Le diagnostic de *néoplasie myélodysplasique myéloproliférative inclassable* est posé si ces 6 critères sont retrouvés :

- Présence de signe(s) clinique(s), biologique(s) et morphologique(s) de l'un des syndromes myélodysplasiques suivant :
 - Anémie réfractaire avec dysplasie unilignée
 - Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne
 - Anémie réfractaire avec dysplasie multilignée
 - Anémie réfractaire avec excès de blastes
- Blastose sanguine et médullaire < 20%
- Signe(s) de myéloprolifération, au niveau biologique, plaquettes ≥ 450 G/L, leucocytes ≥ 13 G/L, monocytose > 1 G/L ou cliniquement, la splénomégalie
- Absence d'antécédent de syndrome myélodysplasique ou de néoplasie myéloproliférative
- Absence de traitement récent par facteur de croissance ou agents cytotoxiques
- Absence du chromosome Philadelphie, du gène de fusion BCR-ABL1, de réarrangement de PDGFRA, PDGFRB ou FGFR1 et de la délétion del(5q) isolée.

Pour l'anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne et thrombocytose (ARSC-T), on retrouve les critères diagnostiques de l'anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne avec un taux de plaquettes ≥ 450 G/L, associés à une prolifération de mégacaryocytes, similaires à ceux observés dans la *thrombocytémie essentielle* ou les phases précoces de la *myélofibrose primitive*. On retrouve une érythroblastose dystrophique avec des sidéroblastes de type III (sidéroblastes en couronne). La majorité des patients ont la mutation JAK2 V617F (60%) ou plus rarement MPL W515K/L.

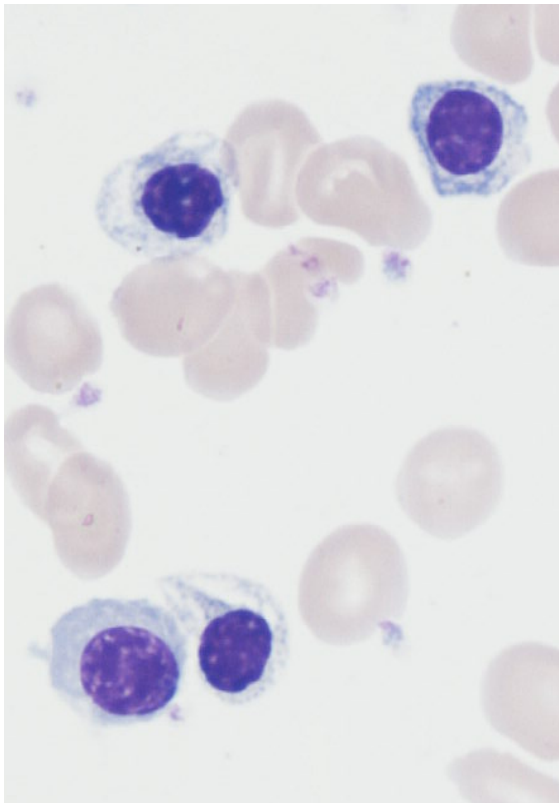


Photo 27 : ARSC-T (MO) : Dysérythropoïèse marquée avec érythroblastes à cytoplasme feuilleté et ponctué (obj.100)

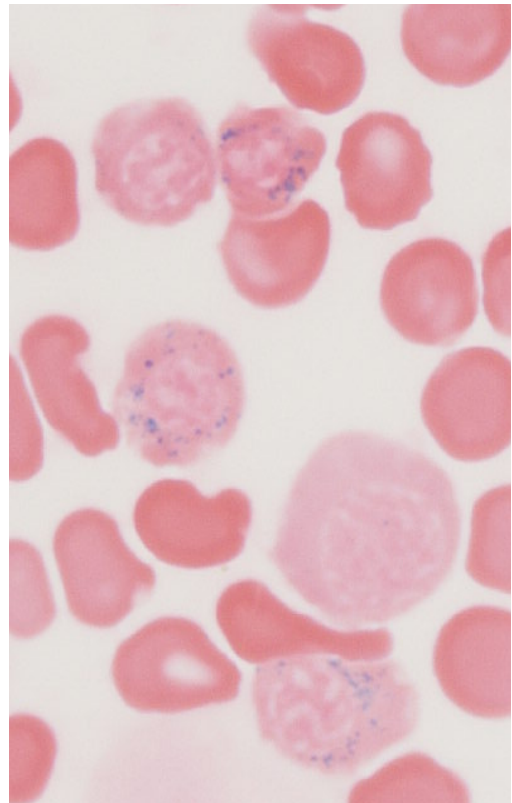


Photo 28 : ARSC-T (MO) : Sidéroblastes de type III sur la coloration de Perls (obj.100)

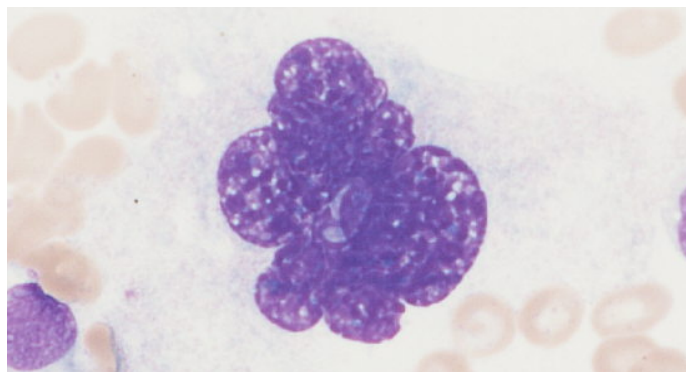


Photo 29 : ARSC-T (MO) : Mégacaryocyte dystrophique (obj.50)

4.6 Référentiels

4.6.1 RUBIH

Le RuBIH propose des examens à réaliser dans le cadre d'une présentation d'une néoplasie « mixte » avec une prépondérance de l'aspect myéloprolifératif (exposés dans le tableau ci-après). Cependant, lorsque la présentation est plutôt myélodysplasique, les examens préconisés sont les mêmes que ceux abordés dans les syndromes myélodysplasiques (*page 116*).

Tableau XV : Critères diagnostiques des néoplasies myélodysplasiques myéloprolifératives

| Examen | Niveau | Obligatoire | Recommandé | En évaluation (ou protocolaire) |
|---|--------|---|------------|---------------------------------|
| Recherche de mutation JAK2 V617F (sang) | A | oui | | |
| Quantification JAK2 V617F (sang) | B | | | oui |
| Myélogramme | A | oui | | |
| Biopsie ostéomédullaire | A | | oui | |
| Recherche BCR-ABL (sang) | A | Si hyperleucocytose et/ou thrombocytose | | |
| Caryotype standard | A | oui | | |
| DNATHèque | A | | oui | |
| RNATHèque | A | | oui | |
| Cellulothèque | B | | oui | |

4.7 Conclusion et synthèse

L'hétérogénéité des néoplasies myélodysplasiques myéloprolifératives rend difficile l'établissement d'une démarche diagnostique d'ensemble. L'élément clé est la présence de signes myéloprolifératifs associée à des signes myélodysplasiques. La numération sanguine et l'appréciation des dysplasies sur frottis médullaire sont les examens biologiques à réaliser initialement (non explicité par le RuBIH).

L'établissement de seuils « obligatoires » pour la monocytose, l'hyperleucocytose et la thrombocytose par la classification OMS 2008 permet de cadrer cette démarche :

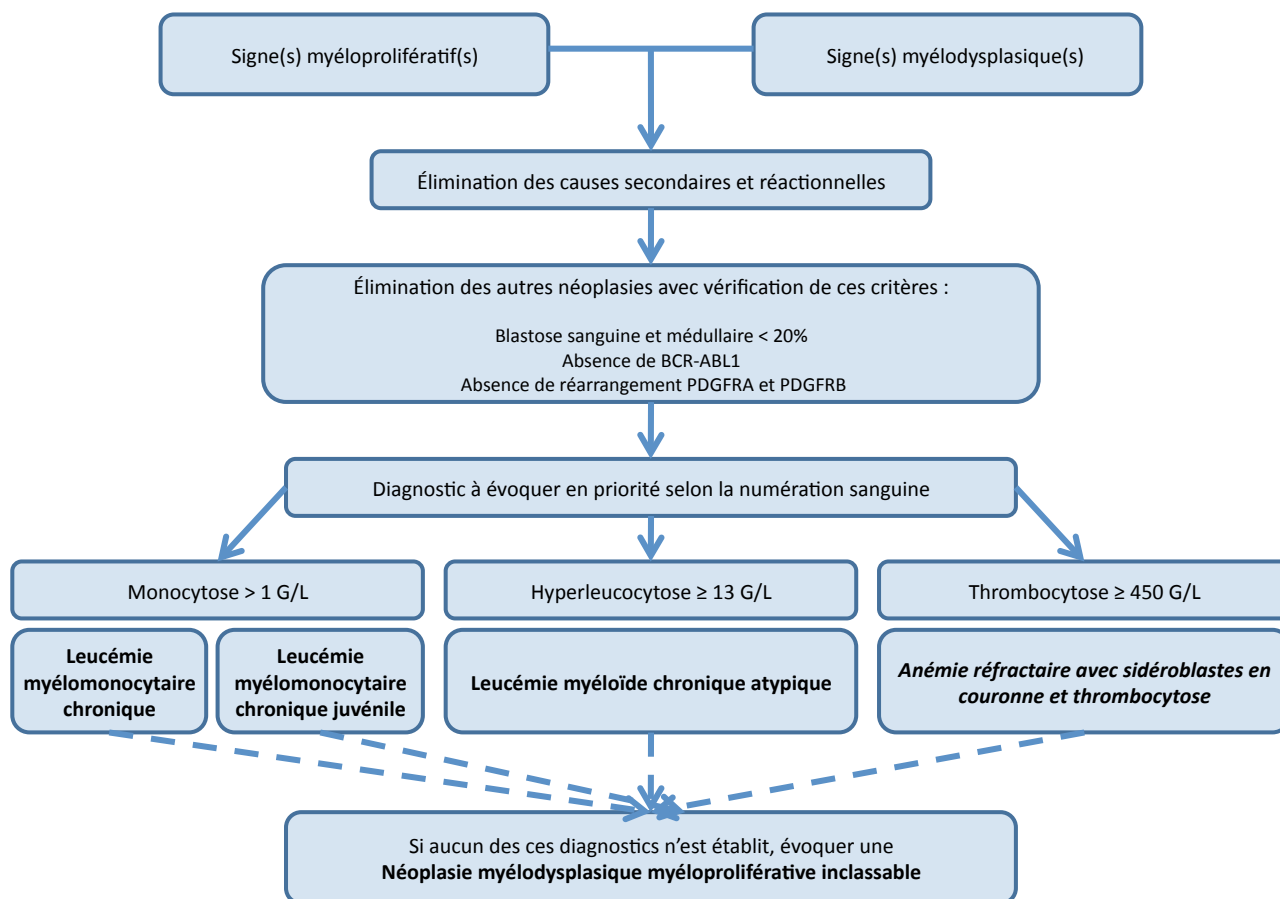


Illustration 10 : Démarche diagnostique d'une néoplasie myélodysplasique myéloproliférative

5 SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

5.1 Introduction

Les syndromes myélodysplasiques sont généralement caractérisés par une prolifération et une apoptose importante des cellules hématopoïétiques. La moelle osseuse est de richesse souvent normale ou augmentée et les cytopénies périphériques sont parfois profondes. Ces néoplasies demeurent parmi les hémopathies myéloïdes les plus difficiles à diagnostiquer clairement.

Une nouvelle entité, provisoire, la *cytopénie réfractaire de l'enfant* est décrite. Contrairement aux cytopénies réfractaires de l'adulte, la majorité des cas présentent une moelle osseuse hypocellulaire. Il est donc souvent difficile de la distinguer de l'anémie aplasique.

5.1.1 Définition

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont des hémopathies malignes myéloïdes d'une grande hétérogénéité clinique et biologique. Ils sont caractérisés par une différenciation et une maturation anormale des cellules hématopoïétiques se traduisant par une hématopoïèse inefficace et un risque augmenté de transformation leucémique. La richesse de la moelle osseuse est normale voire augmentée dans 90% des cas. La présence combinée de cytopénie(s) et de dysplasie(s) myéloïde(s) est toujours retrouvée dans les syndromes myélodysplasiques.

La classification des syndromes myélodysplasiques repose d'abord sur les aspects cytologiques. L'intégration des données cytogénétiques est la principale évolution : elle permet une meilleure homogénéité des diagnostics définis, en termes de physiopathologie et surtout de pronostic.

Les syndromes myélodysplasiques induits par des traitements cytotoxiques et/ou de radiothérapie ne sont pas classés dans ces entités mais dans le groupe des « *néoplasies associées aux thérapies* ».

L'incidence est de 3 à 5 cas pour 100 000 personnes, et ce taux dépasse les 20 cas pour 100 000 chez les personnes de plus de 70 ans. Les syndromes myélodysplasiques touchent plutôt l'homme âgé (médiane à 70 ans).

5.1.2 Critères de classification

Les syndromes myélodysplasiques sont définis, selon la classification OMS 2008 à partir du compte du nombre de cytopénies périphériques, du nombre de lignées dysplasiques, du pourcentage de blastes circulants et médullaires, de la présence de sidéroblastes en couronne, de la présence éventuelle de corps d'Auer et d'une anomalie cytogénétique particulière et de la délétion 5q isolée.

Les seuils de cytopénies recommandés par l'IPPS (*International Prognostic Scoring System*) et retenus par la classification OMS 2008 sont :

- Pour l'anémie, une concentration en hémoglobine inférieure à 10 g/dl
- Pour la neutropénie, un taux de polynucléaires neutrophiles inférieur à 1,8 G/L
- Pour la thrombopénie, un taux de plaquettes inférieur à 100 G/L

Cependant, les critères morphologiques et/ou cytogénétiques restent les critères majeurs dans le diagnostic des syndromes myélodysplasiques même si les cytopénies restent peu marquées. Il n'y a pas forcément de concordance entre les lignées touchées par les dysplasies et les lignées cytopéniques.

Les dysplasies peuvent être accompagnées d'une augmentation du nombre de blastes dans le sang périphérique et/ou dans la moelle osseuse mais le taux reste inférieur à 20%.

5.1.3 Diagnostic différentiel d'une dysmyélopoïèse

La grande difficulté dans le diagnostic d'un syndrome myélodysplasique est d'éliminer une cause non clonale de dysmyélopoïèse. En effet, contrairement à une dysmyélopoïèse permanente et « réfractaire » aux traitements, des causes souvent secondaires sont à évoquer.

Fréquemment, une carence en vitamine B12/folates ou une chimiothérapie interférant avec le métabolisme des folates donne des signes de dysgranulopoïèse assez caractéristiques, avec des signes « mégalo-blastiques ». Une anémie macrocytaire peut être observée, les polynucléaires neutrophiles sont hypersegmentés, les métamyélocytes neutrophiles sont de taille augmentée avec un noyau allongé à chromatine fine. On parle d'aspect « rubané ». Les précurseurs et polynucléaires neutrophiles restent granulaires. La lignée érythrocytaire est hyperplasique avec des érythroblastes de taille augmentée. Il n'y a pas d'excès de blastes.

L'exposition à des métaux lourds comme l'arsenic, l'anémie congénitale dysérythropoïétique, l'anémie aplasique (pour les formes hypoplasiques), les infections virales (Parvovirus B19), les immunosuppresseurs comme le mycophénolate, les chimiothérapies anticancéreuses, les facteurs de croissance tel le G-CSF sont autant de causes de dysmyélopoïèse.

Le caractère commun de toutes ces causes non clonales de dysmyélopoïèse réside dans leur réversibilité. Toute évaluation de dysplasie doit donc tenir compte de la clinique et des thérapeutiques avant de poser un diagnostic de syndrome myélodysplasique.

5.1.4 Le syndrome myélodysplasique avec myélofibrose

La myélofibrose est retrouvée dans près de 15% des syndromes myélodysplasiques. Lorsqu'elle est présente, la classification OMS 2008 préconise de la mentionner au diagnostic. Elle est souvent associée à un excès de blastes et à des formes cliniques agressives. Si la myélofibrose entraîne des aspirations médullaires diluées ou lorsqu'elles sont impossibles, la biopsie ostéomédullaire présente un intérêt pour l'étude des cellules CD34+ (cellules blastiques).

La plupart des myélodysplasies avec myélofibrose sont des anémies réfractaires avec excès de blastes. Elles doivent être identifiées comme « *anémie réfractaire avec excès de blastes et*

myélofibrose » (AREB-F). La myélodysplasie avec myélofibrose est définie par la présence d'un réseau de réticuline diffus et épais, avec ou sans collagénisation, associée à une dysplasie d'au moins deux lignées myéloïdes.

5.1.5 Cytopénies idiopathiques de signification indéterminée

Les cytopénies persistantes sans dysplasie significative et sans anomalie cytogénétique ne peuvent pas être classées dans les syndromes myélodysplasiques mais doivent être suivies. Elles sont intitulées Cytopénies Idiopathiques de Signification Indéterminée (CISI).

5.1.6 Cytogénétique

Environ la moitié des syndromes myélodysplasiques présente des anomalies cytogénétiques. Certaines sont associées à des caractéristiques dysplasiques; en voici quelques exemples :

- La délétion du bras long du chromosome 5 (5q-) touche plutôt les femmes. Les mégacaryocytes présentent des noyaux hypolobés voire monolobés. On retrouve une anémie réfractaire macrocytaire, un taux plaquettaire normal ou augmenté.

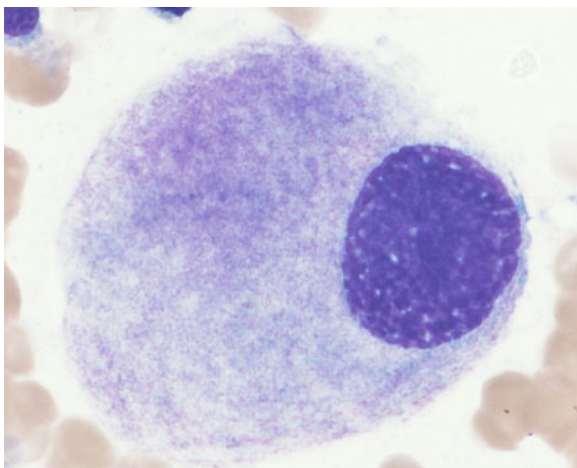


Photo 30 : (MO) : Mégacaryocyte monolobé
« type 5q- » (obj.50)

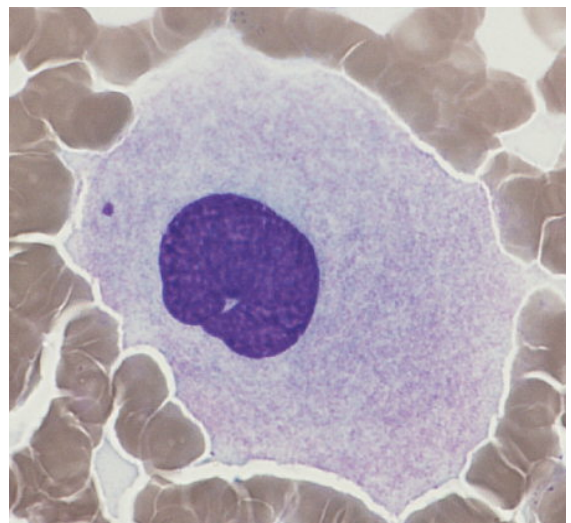


Photo 31 : (MO) : Mégacaryocyte hypolobé
« type 5q- » (obj.50)

- La délétion du bras court du chromosome 17 (17p-) est présente dans les syndromes myélodysplasiques où l'on retrouve des petits polynucléaires neutrophiles aux noyaux hypolobés voire de type « pseudo Pelger-Huët » souvent complet (1 seul lobe), avec présence de vacuoles cytoplasmiques. Au niveau moléculaire, on retrouve la mutation p53. Cette anomalie est fréquemment associée à des syndromes myélodysplasiques ou à des néoplasies myéloprolifératives liés à des thérapies cytotoxiques (en particulier les transformations d'une polyglobulie de Vaquez après un traitement prolongé d'hydroxyurée).

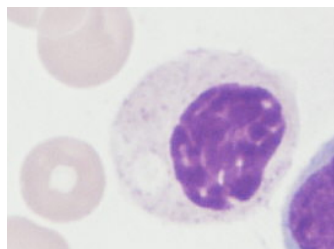


Photo 32 : (Sg) : Polynucléaire neutrophile avec pseudo-Pelger complet, anomalie de la condensation nucléaire, vacuole cytoplasmique (obj.100)

- La délétion 20q isolée est associée à une hyperplasie de lignée érythrocytaire et mégacaryocytaire.
- Les délétions des bras longs des chromosomes 5 et 7 (5q- et 7q-) sont souvent présentes dans les caryotypes complexes (3 anomalies minimum).

Un syndrome myélodysplasique associé au syndrome de Down (trisomie 21 congénitale) est classé dans le groupe des « leucémies aiguës myéloïdes et néoplasies apparentées » dans les proliférations myéloïdes associées au syndrome de Down.

Le tableau ci-après regroupe les principales anomalies cytogénétiques retrouvées dans les syndromes myélodysplasiques. Ces informations pourront être utiles au diagnostic d'un syndrome myélodysplasique fruste (classement dans le *syndrome myélodysplasique inclassable*) ainsi que dans la *leucémie aiguë myéloïde associée à des signes de myélodysplasie* (critère cytogénétique).

Tableau XVI : Principales anomalies cytogénétiques observées dans les syndromes myélodysplasiques

| Anomalies cytogénétiques | Fréquences |
|---|------------|
| trisomie 8 * | 10% |
| monosomie 7 / del(7q) | 10% |
| monosomie 5 / del(5q) | 10% |
| del(20q) * | 5-8% |
| perte du chromosome Y * | 5% |
| i(17q) / t(17p) | 3-5% |
| monosomie 13 / del(13q) | 3% |
| del(11q) | 3% |
| del(12p) / t(12p) | 3% |
| del(9q) | 1-2% |
| idic(X)(q13) | 1-2% |
| t(1;3)(p36.3;q21.2) | 1% |
| t(2;11)(p21;q23) | 1% |
| * Ces anomalies présentes seules ne suffisent pas à être utilisées en faveur d'un diagnostic de syndrome myélodysplasique | |

5.1.7 Étude des critères de dysmyélopoïèse

La classification OMS 2008 définit la dysplasie d'une lignée comme significative lorsqu'au minimum 10% des éléments de la lignée sont dysplasiques. Une précision est notée pour affirmer le caractère dysplasique de la lignée mégacaryocytaire : un minimum de 3 mégacaryocytes dysplasiques doit être retrouvé sur un total de 30 mégacaryocytes observés. Attention, la significativité d'une dysplasie myéloïde est différente lorsqu'elle est évaluée dans le cadre des leucémies aiguës myéloïdes où le seuil est fixé à 50%.

Le tableau suivant indique les signes de dysmyélopoïèse donnés pour la classification OMS :

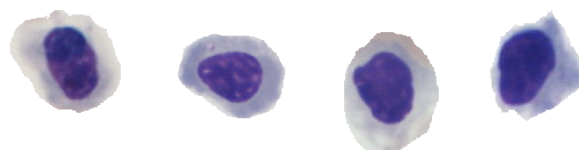
Tableau XVII : Signes de dysmyélopoïèse

| Signes de dysérythropoïèse | Signes de dysgranulopoïèse | Signes de dysmégacaryopoïèse |
|--|--|--|
| Érythroblaste avec anomalie nucléaire (bourgeonnement nucléaire, pont internucléaire, noyau fragmenté, multinucléaire, perte de la forme ronde du noyau) | Taille anormale des cellules de la lignée granulocytaire | Micromégacaryocyte |
| Érythroblaste avec signe « pseudo-mégaloblastique » | Polynucléaire neutrophile avec noyau hypolobé / pseudo-Pelger-Huët | Mégacaryocyte avec noyau hypolobé / non lobé |
| Sidéroblaste en couronne | Polynucléaire neutrophile avec noyau hypersegmenté | Mégacaryocyte multinucléaire |
| Cytoplasme d'érythroblaste déshémoglobinisé | Précurseur, polynucléaire neutrophile avec cytoplasme hypogranulaire / agranulaire | |
| Érythroblaste / Hématie PAS positif (diffus ou granulaire) | Précurseur, polynucléaire neutrophile avec granulations « pseudo Chediak-Higashi » | |
| | Précurseur, polynucléaire neutrophile avec corps d'Auer | |

5.1.7.1 Signes de dysérythropoïèse

Anomalies nucléaires

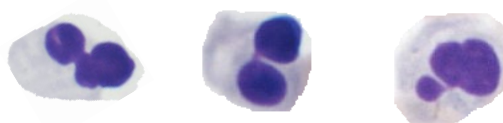
Perte de la forme ronde du noyau



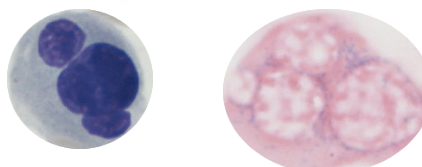
Bourgeonnement nucléaire



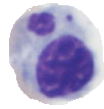
Pont internucléaire



Multinucléaire

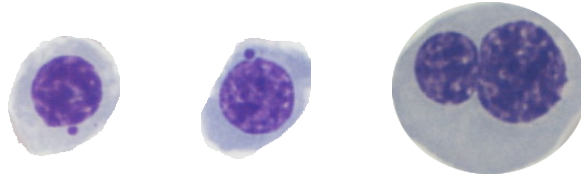


Noyau fragmenté

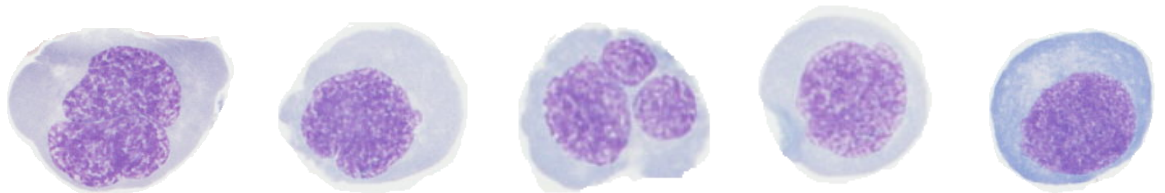


Érythroblaste avec signe « pseudo-mégaloblastique » NB : moins spécifique car visible dans les carences vitaminiques.

Modérés



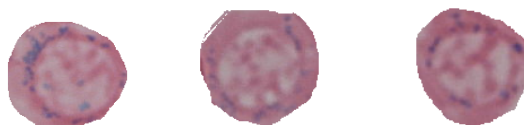
Majeurs



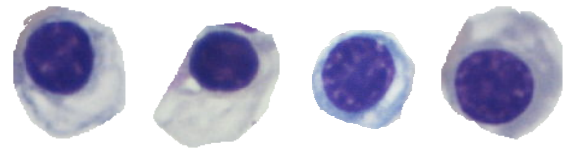
Anomalies cytoplasmiques

Sidéroblaste en couronne

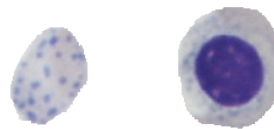
Le sidéroblaste en couronne est un érythroblaste présentant 5 grains ou plus sur au moins un tiers du périmètre nucléaire observé à l'examen d'un frottis de moelle osseuse après coloration de Perls. Les grains bleu/vert correspondent à des dépôts de fer (complexé à l'hémosidérine) mitochondriaux. La présence de sidéroblastes en couronne (même supérieure à 15%) n'est pas un signe spécifique de l'*anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne* et peut être retrouvée dans d'autres syndromes myélodysplasiques [3] ainsi que dans des tableaux secondaires (intoxication alcoolique, au plomb, à l'isoniazide).



Cytoplasme d'érythroblaste déshémoglobinisé

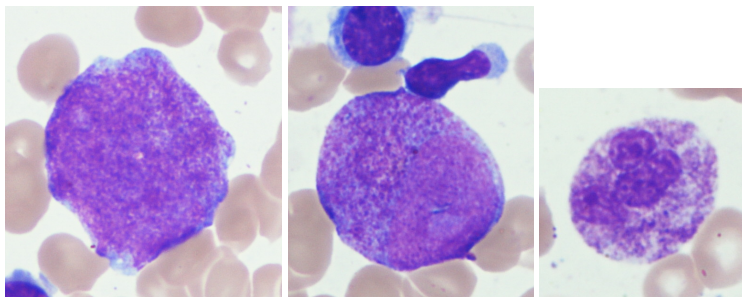


Hématie et Érythroblaste avec ponctuations basophiles (Hors classification OMS)



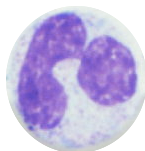
5.1.7.2 Signes de dysgranulopoïèse

Taille anormale des cellules de la lignée granulocytaire



Anomalies nucléaires

Polynucléaire neutrophile avec noyau hypolobé / pseudo Pelger-Huët



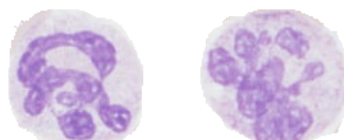
incomplet



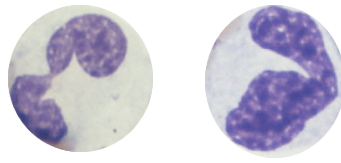
complets



Polynucléaire neutrophile avec noyau hypersegmenté. NB : non spécifique car visible dans les carences vitaminiques.

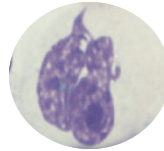


Anomalies de la forme des lobes des polynucléaires neutrophiles (étirement, taille hétérogène) (Hors classification OMS)

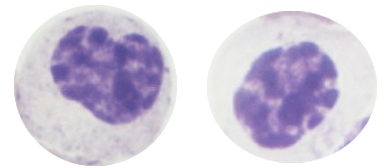


Condensation anormale de la chromatine et anomalie de formes des lobes (Hors classification OMS)

Renforcement ponctuel au milieu du lobe

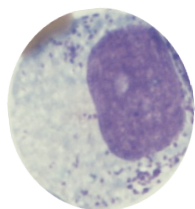


Type « syndrome de condensation anormale de la chromatine

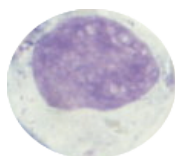


Anomalies cytoplasmiques

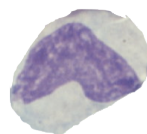
Précurseur et polynucléaire neutrophile avec cytoplasme hypogranulaire / agranulaire



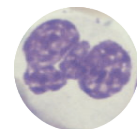
promyélocyte



myélocyte

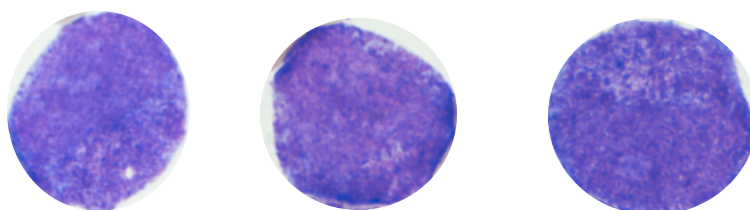


métamyélocyte



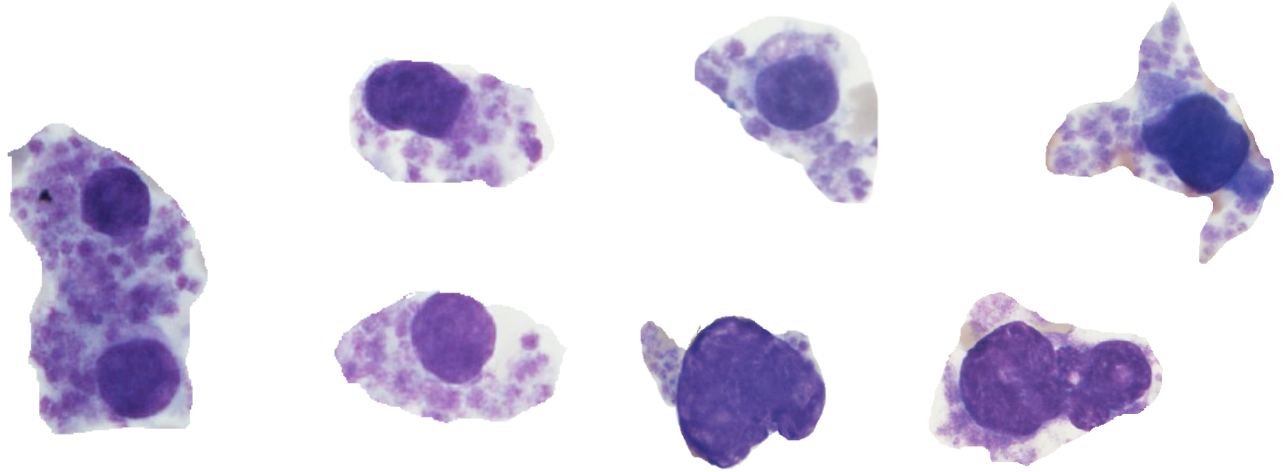
polynucléaire

Précurseurs, polynucléaires neutrophiles hypergranulaires ou avec une répartition anormale des grains (Hors classification OMS) NB : non spécifique car visible dans les régénérations médullaires



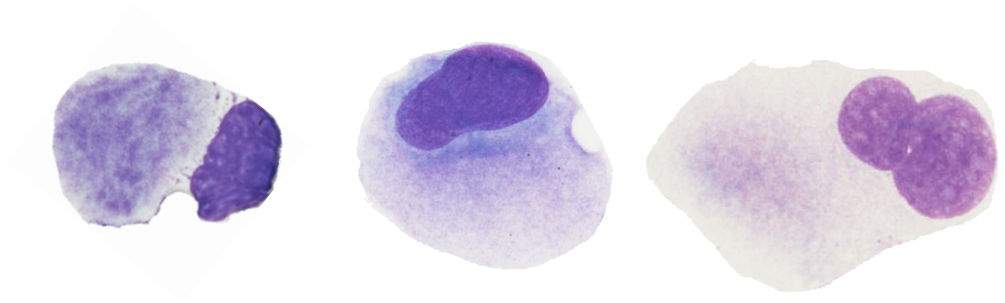
5.1.7.3 Signes de dysmégacaryopoïèse

Micromégacaryocyte

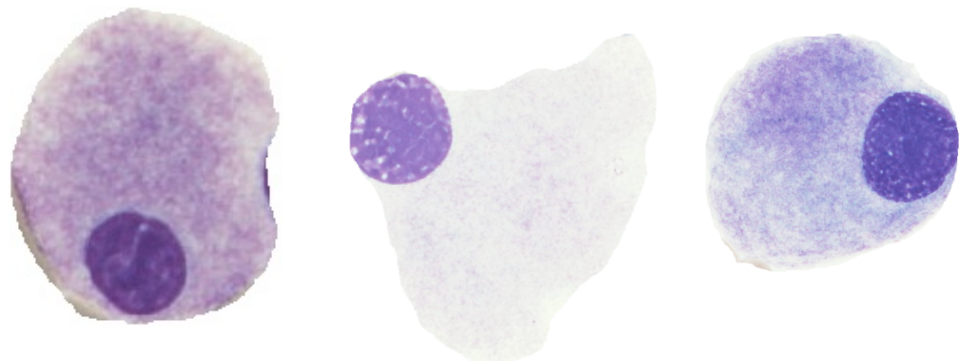


Mégacaryocyte avec noyau hyplobé

Hyplobé

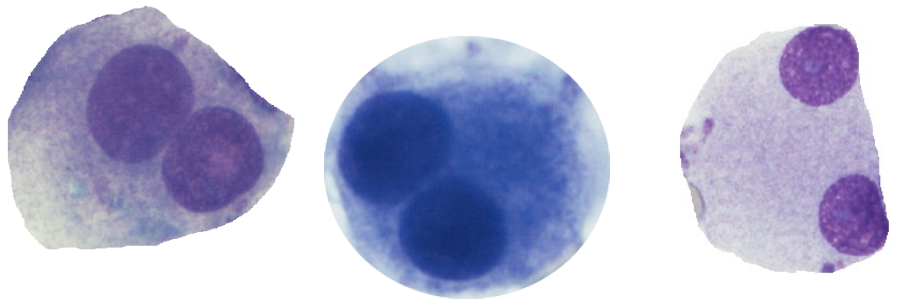


Monlobé

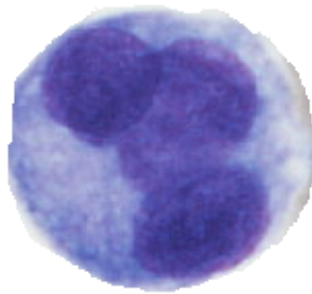


Mégacaryocyte plurinucléé

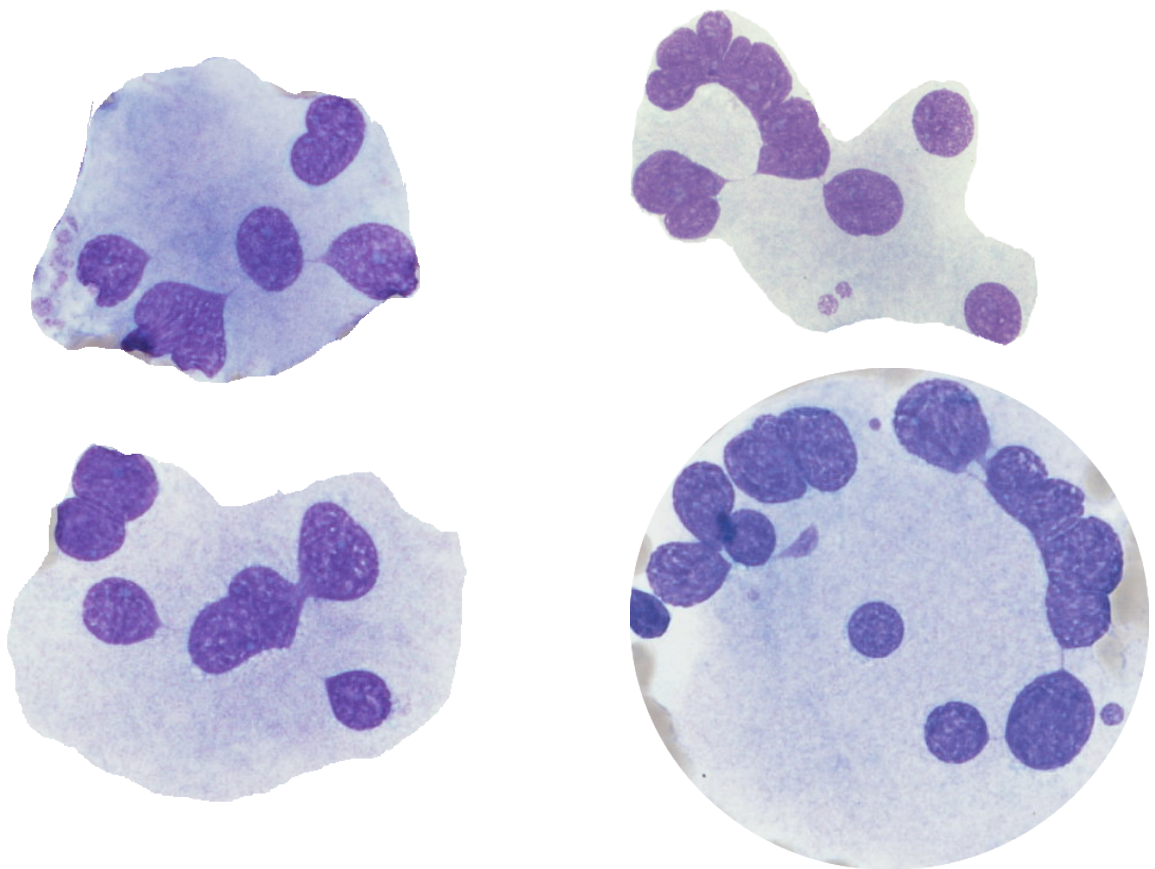
Binucléé



Trinucléé



Multinucléé ou en « sac de billes » NB : moins spécifique car visible dans les carences vitaminiques, les causes toxiques, la *myélofibrose primitive*



5.1.7.4 Blastés (Hors OMS)

La présence de blastés est un critère majeur de la classification des syndromes myélodysplasiques. Leur décompte ainsi que leur description sont essentiels. Ils étaient classés par le FAB en 3 types : blastés de type I, II et III. Ces critères ont récemment été modifiés par l'*International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS)* [3]. Le consensus obtenu recommande une différenciation entre le blaste agranulaire ou avec granulations azurophiles. La description des promyélocytes (normaux et anormaux) a pour objectif d'éviter toute confusion avec le blaste granulaire (voir *Illustration 11, page suivante*). Mais ce décompte blastés/promyélocytes est souvent litigieux dans les SMD à forte dystrophie.

Le myéloblaste se caractérise par un rapport nucléo-cytoplasmique important, une chromatine souvent fine, l'absence de renforcement chromatinien périnucléaire et l'absence de visibilité de l'appareil de Golgi. Les nucléoles sont visibles. Le cytoplasme présente une basophilie variable.

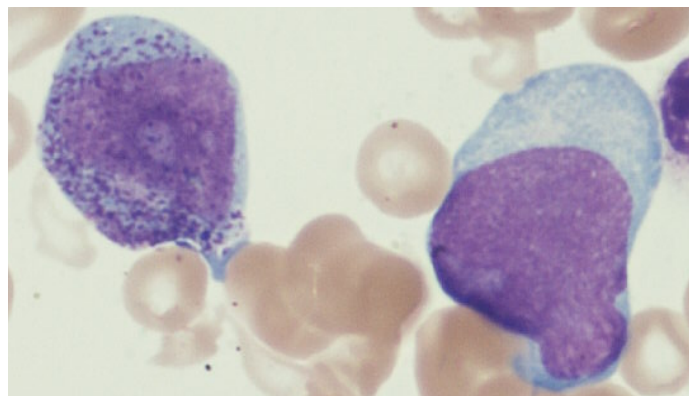


Photo 33 : (MO) : Différenciation promyélocytaire (à gauche) et blaste agranulaire (à droite) (obj.100)

Le promyélocyte présente un noyau central ou excentré. La finesse de la chromatine est variable. Les nucléoles sont souvent visibles et proéminents. La principale caractéristique est la bonne visibilité de l'appareil de Golgi. Le cytoplasme basophile est riche en granulations azurophiles.

Le promyélocyte anormal présente un noyau rond, ovale ou indenté, souvent excentré. La basophilie du cytoplasme est hétérogène, la zone de visibilité de l'appareil de Golgi est réduite. Les anomalies de la granulation sont caractéristiques : hypergranularité, hypogranularité, répartition anormale de grains.

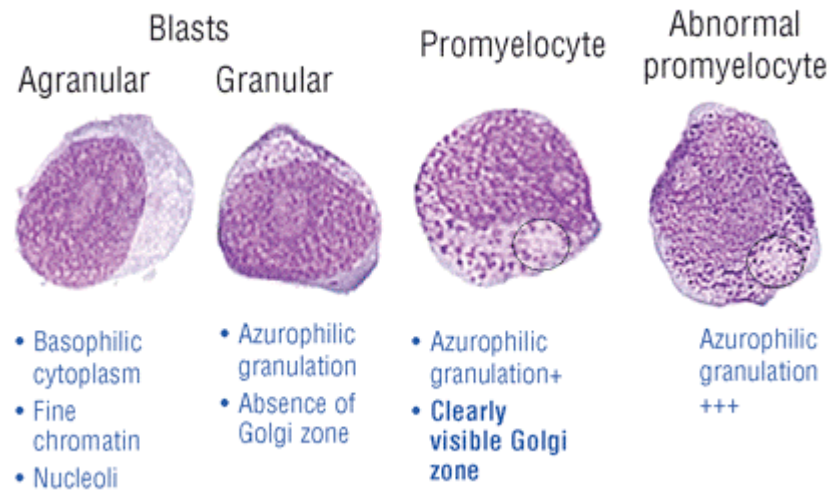


Illustration 11 : Blastés, promyélocytes, promyélocytes anormaux, d'après [3]

5.2 Cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée

Anémie réfractaire ICD-O 9980/3

Neutropénie réfractaire ICD-O 9991/3

Thrombopénie réfractaire ICD-O 9992/3

La *cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée* est représentée par 3 entités distinctes : l'*anémie réfractaire* (AR), la *neutropénie réfractaire* (NR) et la *thrombopénie réfractaire* (TR).

Ces entités représentent 10 à 20% des syndromes myélodysplasiques, l'*anémie réfractaire* est largement majoritaire. L'âge médian au diagnostic est de 65-70 ans.

Les caractères communs sont une cytopénie (de une voire deux lignées) associée à une dysplasie significative sur une seule des lignées. La population dysplasique doit représenter 10% minimum des cellules de la lignée. Les autres lignées ne présentent pas de dysplasie ou alors des dysplasies non significatives (< 10% des éléments de la lignée).

La blastose sanguine reste inférieure à 1%, la blastose médullaire reste inférieure à 5%.

5.2.1 Anémie réfractaire

ICD-O 9980/3

Dans le sang périphérique, les globules rouges sont souvent normochromes, normocytaires ou macrocytaires. Ils sont rarement hypochromes. L'anisocytose et la poïkilocytose peuvent être retrouvés. Les autres lignées sont souvent normales en nombre et en morphologie.

Dans la moelle osseuse, au minimum 10% des précurseurs érythrocytaires sont dysplasiques. Les autres lignées sont normales ou avec des dysplasies non significatives. Les principaux signes de dysérythroïèse sont les anomalies nucléaires. La présence de vacuoles cytoplasmiques et la positivité au PAS (diffus ou granulaire) peuvent être aussi retrouvées. Dans la moelle osseuse, moins de 15% des précurseurs érythrocytaires sont des sidéroblastes en couronne. Dans le cas contraire, cela entraîne le classement comme *anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne*.

Des anomalies génétiques sont retrouvées dans plus de 50% des cas. Les plus fréquentes sont la délétion del(20q), la trisomie 8 et des anomalies touchant les chromosomes 5 et 7.

5.2.2 Neutropénie réfractaire

ICD-O 9991/3

La *neutropénie réfractaire* (NR) est caractérisée par 10% minimum de dysplasie neutrophile, observée sur le sang périphérique ou sur la moelle osseuse. La dysplasie neutrophile se manifeste principalement par un noyau hypolobé et une hypogranularité. La neutropénie peut s'accompagner d'une autre cytopénie périphérique.

5.2.3 Thrombopénie réfractaire

ICD-O 9992/3

La *thrombopénie réfractaire* (TR) est caractérisée par 10% minimum de dysplasie mégacaryocytaire (au moins 3 mégacaryocytes dysplasiques sur 30 observés). Le nombre de mégacaryocytes peut aussi bien être diminué qu'augmenté. La dysplasie mégacaryocytaire se manifeste principalement par la présence de mégacaryocytes binucléés ou multinucléés et de micromégacaryocytes. La thrombopénie peut s'accompagner d'une autre cytopénie périphérique.

La délétion del(20q) a été décrite dans la *thrombopénie réfractaire*.

5.3 Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne

ICD-O 9982/3

L'*anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne* est un syndrome myélodysplasique caractérisé par une anémie et une dysplasie érythrocytaire isolée. Au moins 15% des précurseurs érythrocytaires sont des sidéroblastes en couronne. Les autres lignées peuvent présenter des dysplasies qui restent non significatives. Aucun blaste n'est retrouvé au niveau sanguin, la blastose médullaire n'atteint pas 5%.

Les causes non-clonales, donc secondaires et constitutionnelles, d'anémie sidéroblastique comme les intoxications à l'alcool, au plomb, au benzène, le traitement par isoniazide, la surcharge en zinc, la carence en cuivre, l'anémie sidéroblastique congénitale doivent être écartées.

L'anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne représente 3 à 11% des syndromes myélodysplasiques. L'âge médian de diagnostic est de 60-73 ans avec un équilibre homme/femme.

Dans le sang périphérique, l'anémie est normochrome et normocytaire voire macrocytaire. Les anomalies des hématies sont souvent marquées. Une double population d'hématies normochrome et hypochrome est un élément d'orientation. On ne doit pas retrouver de thrombocytose persistante supérieure à 450 G/L, sinon il faut évoquer une *anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne et thrombocytose* ; entité provisoire des néoplasies myélodysplasiques myéloprolifératives inclassables.

Dans la moelle osseuse, la lignée érythrocytaire est souvent hyperplasique. C'est la seule lignée touchée significativement par des dysplasies. Les érythroblastes sont très déshémoglobinisés et volontiers avec des ponctuations basophiles, un noyau picnotique. On retrouve souvent des macrophages chargés en fer.

Une anomalie cytogénétique est retrouvée chez 5 à 20% des patients, n'impliquant, généralement, qu'un seul chromosome.

5.4 Cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée

ICD-O 9985/3

La *cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée* (CRDM) est un syndrome myélodysplasique avec cytopénie(s) (mono- bi- ou pancytopenie) associée à une dysplasie de 2 ou 3 lignées myéloïdes. La blastose sanguine est inférieure à 1% ; la blastose médullaire est inférieure à 5%. La monocytose est inférieure à 1 G/L. Aucun corps d'Auer n'est retrouvé.

La *cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée* représente environ 30% des cas de syndromes myélodysplasiques. L'âge médian de découverte est approximativement de 70 ans. Il y a une légère prédominance masculine.

La dysplasie neutrophile se manifeste principalement par un noyau hypolobé et une hypogranularité. Les sidéroblastes en couronne peuvent être présents quel que soit leur proportion. La dysplasie érythroïde se manifeste par des plages cytoplasmiques déshémoglobinisées ainsi que des irrégularités nucléaires. La dysplasie mégacaryocytaire se

manifeste plutôt par des mégacaryocytes hypolobés voire non-lobés ou multinucléés. Des micromégacaryocytes peuvent être retrouvés.

Des anomalies génétiques sont présentes dans près de 50% des cas dont la trisomie 8, la monosomie du 7, la délétion del(7q), la monosomie du 5, la délétion 5q et la délétion 20q jusqu'aux caryotypes complexes.

5.5 Anémie réfractaire avec excès de blastes

ICD-O 9983/3

L'*anémie réfractaire avec excès de blastes* (AREB) représente environ 40% des syndromes myélodysplasiques. L'âge médian de survenue est de 50 ans. La différenciation AREB de type 1 et 2 est faite à l'aide du pourcentage de blastes circulants et médullaires :

- AREB-1 : 2-4% dans le sang périphérique et/ou 5-9% dans la moelle osseuse
- AREB-2 : 5-19% dans le sang périphérique et/ou 10-19% dans la moelle osseuse

Les cas avec la présence de corps d'Auer dans les blastes doivent être classés en AREB-2. Un seul critère d'AREB-2 classe un syndrome myélodysplasique dans cette entité (blastose sanguine ou médullaire ou corps d'Auer).

Mis à part la constance de l'anémie, les cytopénies et dysplasies peuvent toucher les 3 lignées myéloïdes. Le plus fréquemment, on retrouve une dysplasie des 3 lignées myéloïdes :

- Sang périphérique :
 - Anisocytose et poikilocytose
 - Plaquettes de taille augmentée, plaquettes géantes, plaquettes hypogranulaires
 - Hyposegmentation nucléaire des polynucléaires neutrophiles

- La moelle osseuse est hypercellulaire :
 - L'érythropoïèse peut être augmentée avec des signes macrocytaires, « pseudo-mégalo-blastiques », précurseurs érythrocytaires avec des anomalies nucléaires
 - Polynucléaires neutrophiles de petites tailles avec noyaux hypolobés (Pseudo-Pelger-Huët), noyaux hypersegmentés, cytoplasmes hypogranulaires, granulations pseudo Chediak-Higashi

La mégacaryopoïèse est quantitativement normale voire augmentée. Les mégacaryocytes de petites tailles peuvent être regroupés en amas.

Les anomalies génétiques sont retrouvées dans 30-50% des AREB. Les plus rencontrées sont la trisomie du 8, la monosomie du 5, la délétion 5q, la monosomie du 7, la délétion 7q et la délétion 20q. On observe aussi des caryotypes complexes.

5.6 Syndrome myélodysplasique avec délétion 5q isolée

ICD-O 9986/3

Le *syndrome myélodysplasique associé à une délétion 5q isolée* ou « syndrome 5q- » est un syndrome myélodysplasique caractérisé par une anémie plutôt macrocytaire associée au non à d'autre(s) cytopénie(s) ou à une thrombocytose dont la seule anomalie génétique est une délétion del(5q). La perte du chromosome Y est compatible avec ce syndrome myélodysplasique.

La moyenne d'âge de découverte de ce syndrome myélodysplasique est de 67 ans et touche plutôt les femmes.

La moelle osseuse est souvent hypercellulaire ou normocellulaire avec une hypoplasie érythrocytaire. Les mégacaryocytes sont souvent plus nombreux et ont tendance à être de plus petite taille, hypolobés voire non-lobés. La dysplasie mégacaryocytaire reste souvent isolée. La blastose sanguine reste inférieure à 1%, la blastose médullaire reste inférieure à 5%. Les corps d'Auer ne sont pas retrouvés.

Il est possible de retrouver dans un syndrome 5q- la mutation JAK2 V617F qu'il faudra mentionner dans le diagnostic.

5.7 Syndrome myélodysplasique inclassable

ICD-O 9989/3

Le *syndrome myélodysplasique inclassable* (SMP-I) regroupe l'ensemble des syndromes myélodysplasiques chez les patients de plus de 14 ans, qui ne présentent pas des caractéristiques suffisantes pour les classer dans l'un des autres syndromes myélodysplasiques.

Trois situations possibles sont définies, elles se basent sur des critères cytologiques non spécifiques :

- Blastose sanguine à 1%, chez les patients où l'on retrouve les caractéristiques des cytopénies réfractaires avec dysplasie unilignée ou multilignée
- Pancytopénie (cytopénies dans les 3 lignées myéloïdes), chez les patients où l'on retrouve les caractéristiques de la cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée
- Association de ces 5 critères :
 - Cytopénie(s) persistante(s)
 - Blastose sanguine < 1%
 - Blastose médullaire < 5%
 - Dysplasie(s) non significative(s)
 - Anomalie(s) cytogénétique(s) évocatrice(s) observée(s) d'un syndrome myélodysplasique (trisomie 8, perte du chromosome Y et délétion 20q exclues)

Il est important de suivre les patients classés dans cette entité, dans le but de dépister un syndrome myélodysplasique plus spécifique.

5.8 Syndromes myélodysplasiques infantiles

Cytopénie réfractaire de l'enfant

ICD-O 9985/3 (prov)

Les syndromes myélodysplasiques infantiles regroupent l'ensemble des syndromes myélodysplasiques retrouvés chez les sujets de moins de 14 ans.

Ils représentent 4% des hémopathies malignes chez l'enfant. La répartition des syndromes myélodysplasiques chez l'enfant est différente de celles des adultes. Ainsi, la *cytopénie réfractaire de l'enfant* est le plus fréquent des syndromes myélodysplasiques infantiles, alors que l'*anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne* et le « syndrome 5q- » sont exceptionnellement retrouvés.

D'une manière générale, le diagnostic du type de syndrome myélodysplasique infantile se base sur les mêmes critères que chez les adultes.

5.8.1 Cytopénie réfractaire de l'enfant

ICD-O 9985/3 (prov.)

Il s'agit de la seule entité clairement définie dans les syndromes myélodysplasiques infantiles et représente, à elle seule, 50% des néoplasies. La *cytopénie réfractaire de l'enfant* touche de manière équilibrée les filles et les garçons.

Ce syndrome myélodysplasique est défini par une cytopénie persistante avec moins de 2% de blastes circulants et moins de 5% de blastes médullaires. Au minimum, on doit retrouver une dysplasie significative sur une lignée ou une dysplasie non significative sur 2 ou 3 lignées.

Une pancytopénie est le plus souvent observée :

- L'hémoglobine est inférieure à 10 g/dl dans 50% des cas
- La thrombopénie est inférieure à 150 G/l dans 75% des cas
- La neutropénie sévère < 0,5 G/l dans 25% des cas

Dans le sang périphérique, on retrouve une anisopoïkilocytose, une macrocytose (à évaluer en fonction de l'âge), une anisochromie des hématies, des polynucléaires hyposegmentés et/ou dégranulés et souvent une anisocytose plaquettaire.

Dans la moelle osseuse, une hypocellularité est observée dans 3 cas sur 4. C'est pour cela que l'analyse histologique de la moelle est indispensable afin d'éliminer une autre anomalie médullaire, notamment une aplasie médullaire. On retrouve des signes de dysplasie dans une ou plusieurs lignées. Dans la lignée mégacaryocytaire, les précurseurs sont souvent moins nombreux. La détection de micromégacaryocytes est un caractère fort du diagnostic de la cytopénie réfractaire de l'enfant.

La difficulté chez l'enfant est l'apparition de dysplasies non en rapport avec une myélodysplasie maligne. Les causes secondaires sont nombreuses et il reste indispensable de les écarter avant de poser un diagnostic.

Sur le plan cytogénétique, la majorité des caryotypes sont normaux. La monosomie du 7 est l'anomalie la plus fréquemment observée, mais des caryotypes complexes sont aussi retrouvés.

5.9 Référentiels

5.9.1 Recommandations SFH 2009

L'interrogatoire et l'examen clinique doivent rechercher l'ancienneté des cytopénies (ainsi que leur retentissement clinique), la présence ou l'absence de splénomégalie, des signes de pathologies dysimmunitaires, l'exposition à des agents étiologiques éventuels. Les exemples sont la radiothérapie, la chimiothérapie, une exposition professionnelle, notamment aux dérivés du benzène ou aux radiations ionisantes. A noter qu'un antécédent de radiothérapie et/ou de chimiothérapie suffit à ne pas classer une hémopathie myéloïde dans ces entités mais dans les *néoplasies associées aux thérapies*. Des signes de pathologie dysimmunitaire sont fréquemment associés (polychondrite, vascularite).

Sur le plan biologique, sont considérés comme indispensables les examens suivants :

- Hémogramme (avec réticulocytes et examen des frottis sanguins)
- Myélogramme (avec décompte du pourcentage de blastes, évaluation de la dysmyélopoïèse et coloration de Perls)
- Caryotype médullaire : recherche d'une monosomie 7 et d'une trisomie 8 chez les sujets jeunes, ou d'une délétion 5q si le tableau hématologique est évocateur (si échec avec moins de 20 mitoses : étude en FISH)

Ces examens seront répétés en cas d'évolutivité :

- Dosage sérique d'érythropoïétine dans les formes à risque faible ou intermédiaire.
- Une ferritinémie et des examens à visée de diagnostic différentiel ou pour éliminer une cause associée d'anémie (carence en fer, carence en B12 ou en folates, insuffisance rénale, hépatite, syndrome inflammatoire, hypothyroïdie, pic monoclonal).
- Recherche de la mutation JAK2, fréquemment positive dans les anémies réfractaires sidéroblastiques avec thrombocytose.

Par ailleurs, la biopsie médullaire n'est considérée indispensable que si l'aspiration médullaire n'est pas concluante. Elle ne permet notamment pas d'éliminer une aplasie ou une myélofibrose.

5.9.2 RUBIH

Tableau XVIII : Critères diagnostiques d'un syndrome myélodysplasique d'après le Guide de Juste Prescription

| Examen | Niveau | Indispensable/Obligatoire | Recommandé, utile au diagnostic et/ou stratification thérapeutique individuelle | En évaluation |
|---|--------|--|--|-------------------------|
| Cytomorphologie | | | | |
| NFS | A | oui | | |
| Myélogramme | A | oui | | |
| BOM | A | | oui | |
| Coloration de Perls | A | oui | | |
| Quantification des blastes (sang et moelle) et des dysplasies | A | | | |
| Classification FAB/OMS 2008 | A | oui | | |
| Cytogénétique | | | | |
| Caryotype médullaire (KT) | A | à renouveler si échec | | |
| FISH CEP7 et 5q | A | si 2 échecs de KT, si pancytopenie à KT normal, si KT normal avec intention d'allogreffe, si suspicion de syndrome 5q- | | |
| FISH 7q | A | | si 2 échecs de KT, si pancytopenie à KT normal, si KT normal avec intention d'allogreffe, si suspicion de syndrome 5q- | |
| FISH CEP8 | A | | oui | |
| Biochimie, cytométrie, culture, biologie moléculaire | | | | |
| Folates, Vit. B12, créatininémie | A | oui, au titre du diagnostic différentiel dans les formes sans excès de blastes | | |
| Dosage sérique d'érythropoïétine | A | | si risque faible et intermédiaire | |
| Ferritinémie | A | oui, en vue d'un support transfusionnel | | |
| Typage HLA | A | oui, en vue d'une allogreffe | | |
| PGP fonctionnel (efflux Rho123 +/- réversant) | A | | | oui |
| Clone HPN et typage HLA DR | A | | si traitement immunosuppresseur envisagé | |
| Immunophénotypage moelle ELN | A | | | oui |
| Culture de progéniteurs hématopoïétiques | A | | si suspicion d'un SMD/SMP avec thrombocytose, splénomégalie, myélofibrose, thromboses | |
| TET2 | B | | | oui |
| JAK2 | A | si suspicion d'un SMD/SMP avec thrombocytose, splénomégalie, myélofibrose, thromboses | | |
| c-CBL | B | | | si LMMC |
| AML1/RUNX1, ASXL1 | B | | | oui |
| FLT3-ITD, NPM1 | B | | si LAM secondaire | |
| RAS, TP53 | B | | | oui |
| hTERT | B | | | si formes hypoplasiques |
| WT-1 | B | | | si suivi MRD |
| Etude pan-génomique CGH, SNP, mC | B | | | oui |
| Tumorotheque et registre | | | | |
| Cellulotheque | A | | oui | |
| Sérotheque | A | | oui | |
| Registre | A | | oui | |

5.10 Démarche diagnostique d'un syndrome myélodysplasique

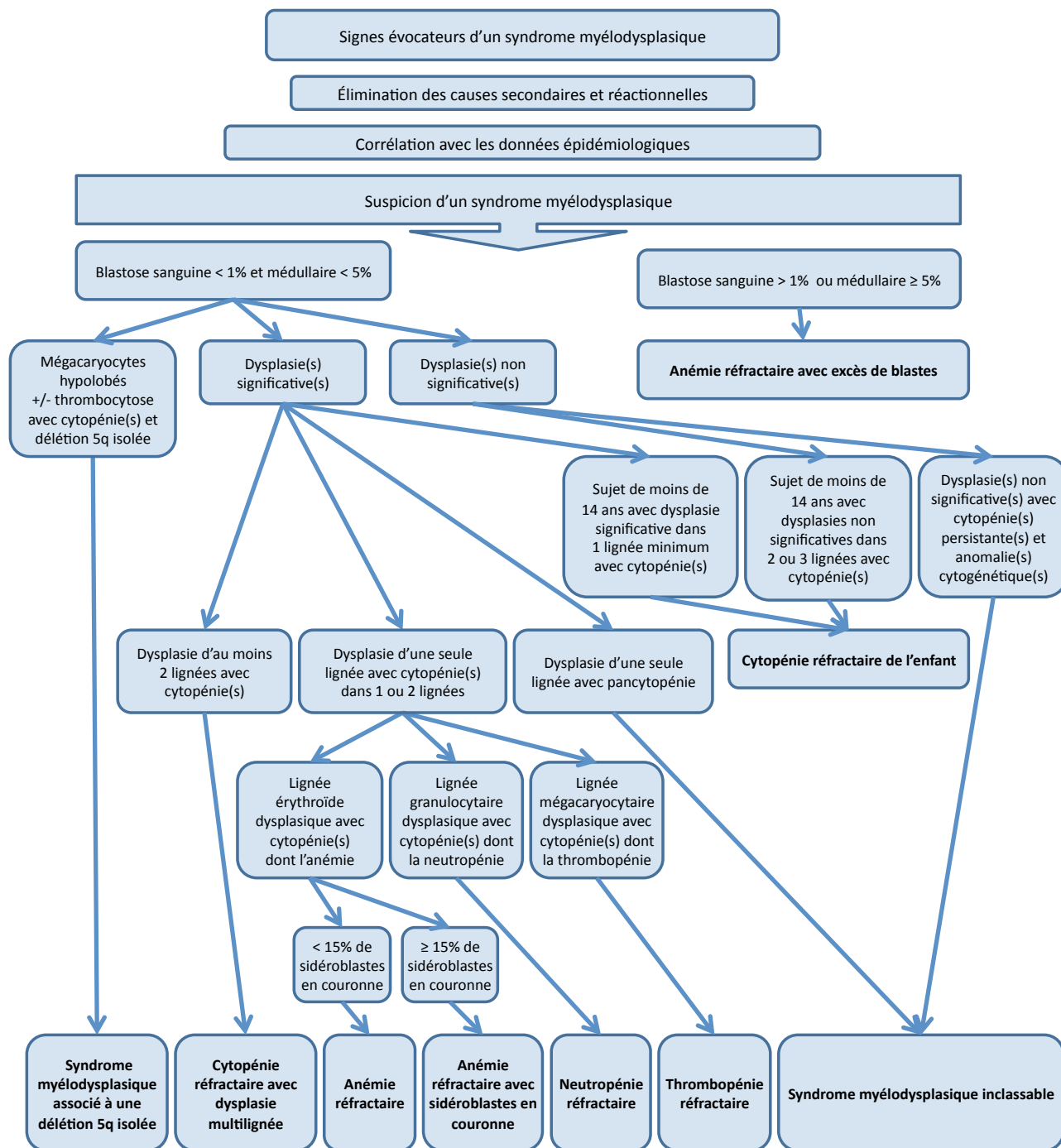


Illustration 12 : Démarche diagnostique d'un syndrome myélodysplasique

Quelques précisions sont à apporter à cette démarche diagnostique :

- Les cas présentant une blastose sanguine égale à 1% (et une blastose médullaire < 5%) sont compatibles avec le *syndrome myélodysplasique inclassable* ou la *cytopénie réfractaire de l'enfant* si les autres critères diagnostiques sont retrouvés.

- La distinction AREB-1 / AREB-2 se base sur les blastoses sanguine et médullaire :
 - AREB-1 => blastose sanguine de 2 à 4% et/ou médullaire de 5 à 9%
 - AREB-2 => blastose sanguine de 5 à 19% et/ou médullaire de 10 à 19%
- Il est sous-entendu que le diagnostic d'AREB intègre les cytopénies et les dystrophies associées. En cas d'excès de blastes isolé, la cytométrie en flux peut être utile dans la démarche diagnostique.
- La présence de corps d'Auer classe un syndrome myélodysplasique en AREB-2 quel que soit le nombre de blastes dans le sang et dans la moelle.
- Des signes de myéloprolifération (comme une monocytose persistante supérieure à 1 G/L) ne doivent pas être retrouvés.
- La présence d'un réseau de réticuline diffus et épais, avec ou sans collagénisation, associée à une dysplasie d'au moins 2 lignées définit un syndrome myélodysplasique avec myélofibrose. Elle est souvent retrouvée dans les *anémies réfractaires avec excès de blastes* et doit être précisée au diagnostic. Par exemple : « *Anémie réfractaire avec excès de blastes et myélofibrose* ».
- Pour les sujets de moins de 14 ans, on doit préciser le caractère infantile du syndrome myélodysplasique (s'il ne s'agit pas de la *cytopénie réfractaire de l'enfant*). Par exemple : « *syndrome myélodysplasique infantile de type anémie réfractaire* ».
- La mise en évidence de l'une des anomalies génétiques récurrentes (vues dans le chapitre traitant des LAM) suffit à classer le syndrome myélodysplasique en leucémie aiguë myéloïde avec anomalies génétiques récurrentes quelles que soient les blastoses sanguine et médullaire.
- Pour les *cytopénies réfractaires avec dysplasie unilignée*, la seule présence répétée de blastes entraîne le classement dans le *syndrome myélodysplasique inclassable*.
- La perte du chromosome Y est compatible avec le *syndrome myélodysplasique associé à une délétion 5q isolée*.

La démarche diagnostique se base essentiellement sur l'appréciation des blastoses sanguine et médullaire, le nombre et la nature des lignées dysplasiques ainsi que le nombre et la nature des cytopénies périphériques. Pour l'OMS 2008 et la SFH le caryotype n'est pas indispensable, il est cependant obligatoire lors d'une suspicion d'un syndrome 5q-. Cependant, le RuBIH propose une systématisation de cet examen. Malgré un intérêt certain de l'analyse cytogénétique, notamment pour le pronostic, sa mise en œuvre et son coût entraînent des difficultés de réalisation.

Aucune recommandation ne signale l'intérêt d'une éventuelle double lecture cytologique et cytométrique avant l'établissement définitif d'un diagnostic de LAM. Malgré la difficulté du diagnostic ; il est laissé à la liberté du biologiste de faire contrôler son résultat ou non.

En ce qui concerne la coloration de Perls, la SFH et le RuBIH proposent sa réalisation pour tout bilan diagnostique de syndrome myélodysplasique. Mais la classification OMS 2008 n'indique à aucun moment son exécution. De manière implicite, il faut effectuer obligatoirement une coloration de Perls pour le diagnostic de *l'anémie réfractaire* et *l'anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne*. En revanche, son intérêt est limité lorsque 2 ou 3 lignées myéloïdes sont déjà identifiées comme dysplasiques de manière significative. En effet, comme la majorité des signes de myélodysplasie, la présence de sidéroblastes n'est pas spécifique, et seuls les cas avec 15% minimum de sidéroblastes en couronne sont significatifs. Cependant, elle peut apporter un argument fort en cas de difficulté dans l'évaluation des dysplasies. Il est à noter qu'il n'y a pas de corrélation entre la présence significative de sidéroblastes de type III et une dysérythroïèse vue au MGG.

Dans la mesure où certaines des propositions de la classification OMS restent discutées (élimination des AREB-T et des LMMC du domaine des SMD, appréciation de la dysmyélopoïèse multilignée), la SFH recommande de classer les patients à la fois avec la classification FAB et l'OMS 2008.

6 LEUCEMIES AIGUËS MYELOÏDES ET NEOPLASIES APPARENTEES

6.1 Introduction

La leucémie aiguë myéloïde (LAM) résulte de l'expansion clonale de blastes myéloïdes dans le sang périphérique, la moelle osseuse ou d'autres tissus. C'est une néoplasie hétérogène sur le plan clinique, morphologique et génétique qui peut impliquer une ou plusieurs lignées myéloïdes. Dans le monde, l'incidence est d'environ 2,5 à 3 cas pour 100 000 habitants par an et serait plus élevée en Australie, en Europe occidentale et aux États-Unis. L'âge médian au moment du diagnostic est de 65 ans, avec une légère prédominance masculine. Chez les enfants de moins de 15 ans, les LAM représentent 15 à 20% de tous les cas de leucémies aiguës, avec une incidence maximale avant 4 ans.

Le pourcentage de blastes requis pour un diagnostic de LAM est de 20% ou plus dans le sang périphérique ou la moelle osseuse. Parfois, le diagnostic de LAM peut être fait alors que le nombre de blastes est inférieur à 20%. Il s'agit de cas avec anomalies chromosomiques récurrentes (décrit de manière explicite seulement pour certaines anomalies), ou pour lesquels les précurseurs de la lignée rouge représentent 50% ou plus des cellules nucléées de la moelle osseuse. Une particularité intervient alors dans le décompte des blastes qui est recalculé après déduction des précurseurs érythrocytaires, les cellules lymphoïdes ainsi que les plasmocytes doivent être écartés. Avec cette méthode de calcul, la blastose doit atteindre obligatoirement 20% minimum, alors que le décompte standard des blastes peut quelquefois être inférieur à 20%.

Diverses néoplasies ont été incorporées dans cette famille intitulée « leucémies aiguës myéloïdes et néoplasies apparentées ». Le premier groupe : les LAM avec anomalies génétiques récurrentes illustrent la volonté de définir des entités clairement identifiées à l'aide de la biologie moléculaire. Ensuite, la *leucémie aiguë myéloïde associée à des signes de myélodysplasie* est une entité pouvant être définie par des critères morphologiques, cytogénétiques voire cliniques. La troisième entité regroupe non seulement les LAM mais aussi toutes les *néoplasies myéloïdes associées à des thérapies*, c'est alors que l'interrogatoire du patient et la communication biologistes-cliniciens sont indispensables. Enfin, toutes les LAM qui n'ont pu être classées dans les trois premiers groupes peuvent l'être dans l'une des entités « NOS » pour *Not Otherwise Specified*

traduit de l'anglais par LAM non spécifiées par ailleurs. D'une manière générale, les descriptions cytologiques se calquent sur les descriptions de la classification FAB.

Enfin, les autres entités de cette famille sont les néoplasies apparentées aux LAM. Il s'agit du *sarcome myéloïde*, des proliférations myéloïdes liées au syndrome de Down et de la *néoplasie à cellules dendritiques plasmacytoïdes blastiques*.

La stratégie diagnostique proposée par la classification OMS 2008 s'est basée sur des études cliniques en lien avec l'agressivité de la néoplasie, le pronostic et la réponse aux traitements.

6.2 Principaux changements par rapport à l'édition 2001

- LAM avec anomalies génétiques récurrentes
 - Les LAM avec *t(8;21)(q22;q22)*, LAM avec *inv(16)(p13.1q22)* et LAM avec *t(15;17)(q22;q12)* sont considérées comme des LAM indépendamment du décompte des blastes ; pour toutes les autres, la blastose sanguine et/ou médullaire à 20% minimum est demandée.
 - Dans la LAM avec *t(15;17)(q22;q12)* ; *PML-RARA*, des translocations variantes de RARA avec d'autres gènes associés sont identifiées séparément ; toutes n'ont pas la morphologie typique de leucémie aiguë promyélocytaire et certaines présentent une résistance à l'ATRA.
 - L'ancienne catégorie, LAM avec anomalie 11q23 (*MLL*) a été redéfinie et limitée en tant que LAM avec *t(9;11)(p22;q23)* ; *MLLT3-MLL*. Les autres translocations équilibrées impliquant *MLL* doivent être indiquées dans le diagnostic.
 - Trois nouvelles entités cytogénétiquement définies sont ajoutées : LAM avec *t(6;9)(p23;q23)* ; *DEK-NUP214*, LAM avec *inv(3)(q21q26.2)* ; *RPN1-EVI1* et LAM avec *t(1;22)(p13;q13)* ; *RBM15-MKL1*.

- Deux entités provisoires sont ajoutées : *LAM avec mutation NPM1* et *LAM avec mutation CEBPA*. Bien que non définie comme une entité distincte, la recherche de mutations FLT3 est fortement recommandée dans les LAM cytogénétiquement normales.
- *LAM associée à des signes de myélodysplasie*
 - Le nom de cette entité a évolué, les *LAM avec dysplasie multilignée* sont maintenant des *LAM associée à des signes de myélodysplasie*.
 - Un seul des trois critères suivants suffit à classer une LAM dans cette entité : antécédent de syndrome myélodysplasique ou de syndrome frontière, présence d'anomalie(s) cytogénétique(s) liée aux myélodysplasies ou présence des critères morphologiques classiques (50% minimum de dysplasies sur au moins deux lignées).
- Les *néoplasies myéloïdes liées au thérapies* ne sont plus sous-catégorisées selon l'agent en cause (agents alkylants, inhibiteurs de topoisomérase, autres).
- LAM NOS ou LAM non spécifiées par ailleurs
 - Du fait de nouveaux critères plus larges pour le diagnostic de *LAM associée à des signes de myélodysplasie*, les cas de *leucémie aiguë érythroblastique* ont quasiment disparu.
 - Du fait de nouvelles entités avec anomalies cytogénétiques récurrentes notamment l'inversion inv(3)(q21q26.2) ; RPN1-EVI1 ou la translocation t(1;22) (p13;q13) ; RBM15-MKL1 et de l'individualisation des néoplasies liées au syndrome de Down, les cas de *leucémie aiguë mégacaryoblastique* ont aussi quasiment disparu.
- La nouvelle entité provisoire *myélopoïèse anormale transitoire* est ajoutée aux néoplasies myéloïdes dans les proliférations myéloïdes liées au syndrome de Down. Le syndrome myélodysplasique et la leucémie aiguë myéloïde liée au syndrome de Down sont considérés comme équivalents.

6.3 Leucémies aiguës myéloïdes avec anomalies génétiques récurrentes

| | |
|--|-----------------------------|
| Leucémie aiguë myéloïde avec t(8;21)(q22;22) ; RUNX1-RUNX1T1 | ICD-O 9896/3 |
| Leucémie aiguë myéloïde avec inv(16)(p13.1q22) ; CBFβ-MYH11 | ICD-O 9871/3 |
| Leucémie aiguë promyélocytaire avec t(15;17)(q22;q12) ; PML-RARA | ICD-O 9866/3 |
| Leucémie aiguë myéloïde avec t(9;11)(p22;q23) ; MLLT3-MLL | ICD-O 9897/3 |
| Leucémie aiguë myéloïde avec t(6;9)(p23;q34) ; DEK-NUP214 | ICD-O 9865/3 |
| Leucémie aiguë myéloïde avec inv(3)(q21;q26.2) ; RPN1-EVI1 | ICD-O 9869/3 |
| Leucémie aiguë myéloïde avec t(1;22)(p13;q13) ; RBM15-MKL1 | ICD-O 9911/3 |
| <i>Leucémie aiguë myéloïde avec mutation NPM1</i> | <i>ICD-O 9861/3 (prov.)</i> |
| <i>Leucémie aiguë myéloïde avec mutation CEBPA</i> | <i>ICD-O 9861/3 (prov.)</i> |

6.3.1 Introduction

Les leucémies aiguës myéloïdes avec anomalies génétiques récurrentes regroupent un ensemble d'entités dont le critère commun est la mise en évidence par la cytogénétique et/ou par la biologie moléculaire d'une caractéristique génétique.

En ce qui concerne les quatre premières leucémies aiguës myéloïdes, la seule mise en évidence de leur caractéristique génétique suffit à les classer dans ces entités, quelle que soit la blastose. Pour les autres entités, la blastose sanguine et/ou médullaire est supérieure ou égale à 20%.

Les leucémies aiguës myéloïdes avec anomalies génétiques récurrentes induites par des traitements cytotoxiques et/ou par radiothérapie ne sont pas classées dans ces entités mais dans les *néoplasies associées aux thérapies* auxquelles on précisera l'anomalie génétique.

6.3.2 Leucémie aiguë myéloïde avec t(8;21)(q22;q22) ; RUNX1-RUNX1T1

ICD-O 9896/3

La *leucémie aiguë myéloïde avec t(8;21)(q22;q22) ; RUNX1-RUNX1T1* présente une différenciation neutrophile. Elle représente environ 5% des leucémies aiguës myéloïdes et 10% des leucémies aiguës myéloïdes de type 2 (selon la classification FAB). Elle est essentiellement retrouvée chez les sujets jeunes.

Il existe une double population blastique : Les premiers sont de grande taille, avec une importante basophilie. Le cytoplasme contient des granulations azurophiles avec une zone périnucléaire claire. On retrouve souvent des blastes hypergranulaires. Quelques blastes peuvent contenir de larges granulations pseudo-Chédiak-Higashi. Les corps d'Auer sont fréquemment présents. Ils sont plutôt longs et typiquement « plantés » dans la zone de l'appareil de Golgi. Les seconds sont des blastes, plus petits, indifférenciés. La blastose est rarement inférieure à 20% dans la moelle osseuse.

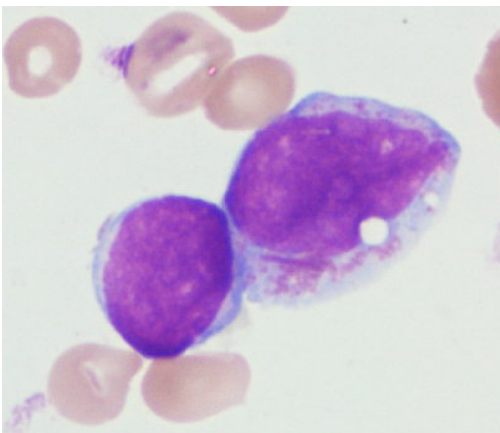


Photo 34 : LAM t(8;21) (MO) : Blaste de taille moyenne, à corps d'Auer (à droite) et blaste indifférencié de petite taille (à gauche) (obj.100)

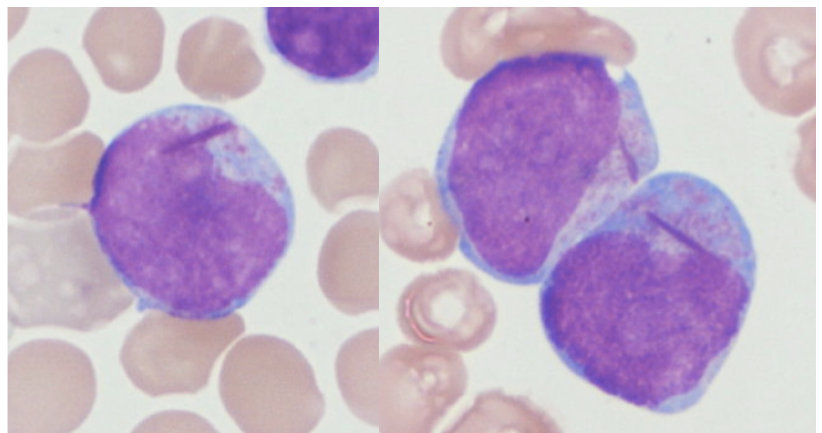


Photo 35 : LAM t(8;21) (MO) : Blastes à corps d'Auer unique « planté » dans la zone du Golgi (obj.100)

Les lignées érythrocytaire et mégacaryocytaire ne présentent généralement pas de dysplasie. Une dysplasie de la lignée granulocytaire est fréquente sur la moelle osseuse (anomalies de la segmentation nucléaire, anomalies de la coloration du cytoplasme). A noter que les signes de dysplasie granuleuse sont différents de ceux vus, notamment dans les AREB, sans aspect

pseudo-Pelger. Les précurseurs éosinophiles sont souvent augmentés. Les monocytes sont en nombre diminué voire absents.

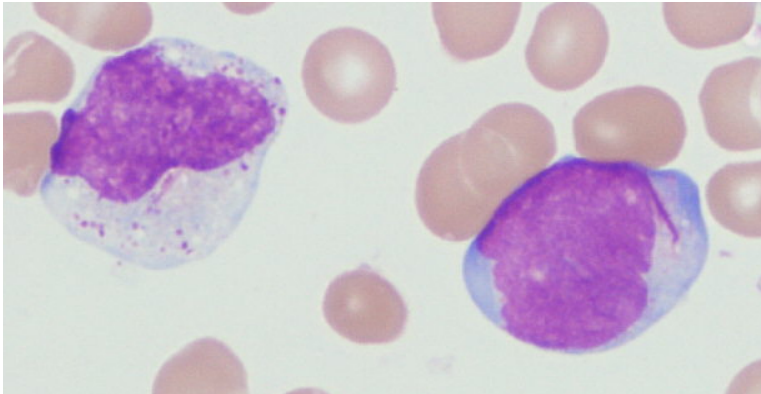


Photo 36 : LAM t(8;21) (MO) : Précurseur neutrophile dystrophique et blaste à corps d'Auer (obj.100)

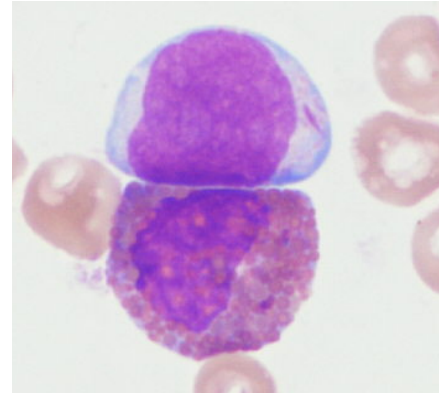


Photo 37 : LAM t(8;21) (MO) : Métamyélocyte éosinophile et blaste (obj.100)

A l'immunophénotypage, les blastes sont CD34+, HLA-DR+, MPO+, CD13+, mais plus rarement CD33+. Quelquefois, on retrouve une expression faible de la Terminal-désoxynucléotidyl-transférase (TdT). La maturation neutrophile est illustrée par l'expression du CD15 et/ou du CD65. Quelquefois, un asynchronisme de maturation des blastes est observé par la coexpression du CD34 et du CD15. Des marqueurs lymphoïdes sont fréquemment exprimés comme CD19, PAX5, ou cytCD79a. Le CD56 est exprimé dans certains cas (considérés de mauvais pronostic).

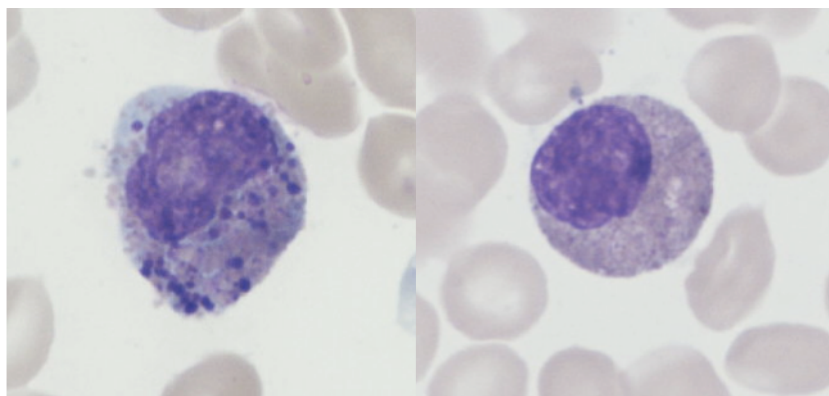
Pour le diagnostic, la seule présence de la translocation t(8;21)(q22;q22) et/ou la mise en évidence du transcrit RUNX1-RUNX1T1 permet le classement dans cette entité. Dans plus de 70% des cas, on retrouve d'autres anomalies chromosomiques (perte d'un chromosome sexuel, délétion 9q22). Les mutations de KRAS ou NRAS sont fréquentes (30%) dans les leucémies infantiles liées au *Core Binding Factor*. Les mutations de KIT sont présentes dans 20 à 25% des cas (considérés de mauvais pronostic). Éventuellement, il y a une association, en cytologie, à des mastocytes augmentés en nombre et qui persistent longtemps sous traitement, après l'obtention de la rémission cytologique. Les mastocytes sont porteurs de la translocation t(8;21) et sont responsables d'une persistance de la positivité des PCR.

6.3.3 Leucémie aiguë myéloïde avec *inv(16)(p13.1q22)* ; CFBF-MYH11

ICD-O 9871/3

La *leucémie aiguë myéloïde avec *inv(16)(p13.1q22)* ; CFBF-MYH11* présente une différenciation monocytaire et neutrophile et des anomalies caractéristiques des éosinophiles dans la moelle osseuse. Elle représente 5 à 8% des leucémies aiguës myéloïdes. Elle correspond « cytologiquement » à la forme variante éosinophile de la leucémie aiguë myéloïde de type 4 de la classification FAB. Elle peut être diagnostiquée à tous les âges mais plutôt chez le patient jeune.

Au niveau cytologique, on retrouve fréquemment, dans la moelle osseuse, des éosinophiles augmentés en nombre. Il n'y a pas de blocage de maturation. Dans le sang périphérique, on n'observe habituellement pas d'hyperéosinophilie. La dystrophie évocatrice consiste en la présence de grosses granulations primaires denses et pourpres dans les précurseurs éosinophiles immatures ainsi qu'une hyposégmentation nucléaire sur les éosinophiles matures. Toutefois, les précurseurs typiques sont présents en nombre très variable, parfois très réduits. On retrouve une augmentation des contingents monocytaire et éosinophile accompagnée d'une diminution des neutrophiles matures. Des dystrophies monocytaires sont observées. La réaction naphthol-ASD-chloroacétate est faiblement positive.



*Photo 38 : LAM *inv(16)* (MO) : Éléments éosinophiles dystrophiques (à gauche, précurseur à grosses granulations pourpres ; à droite, élément mature à noyau hypolobé) (obj.100)*

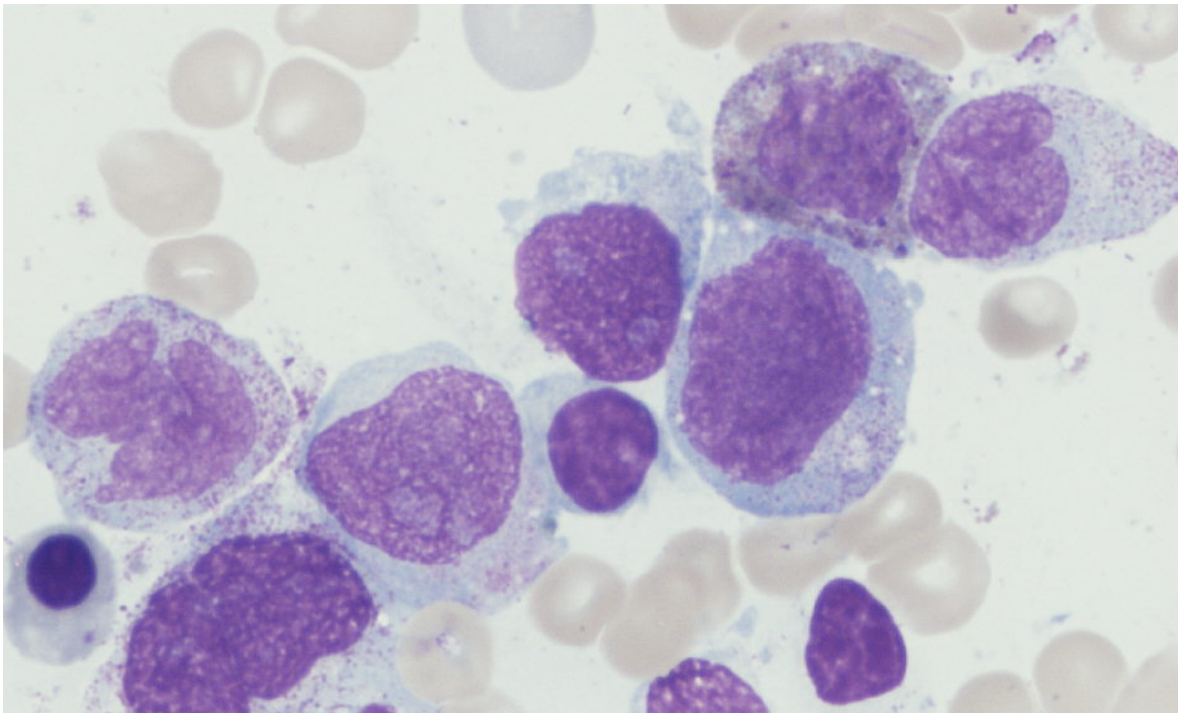


Photo 39 : LAM inv(16) (MO) : Contingent monocytaire augmenté et dystrophique, un éosinophile dystrophique (obj.100)

Les blastes peuvent présenter des corps d'Auer et 3% au moins expriment la myéloperoxidase (MPO). Les monoblastes et promonocytes présentent une réaction estérase non spécifique.

Au niveau de l'immunophénotypage, on retrouve des blastes CD34 et CD117. Les marqueurs spécifiques de la lignée granulocytaire (CD13, CD33, CD15, CD65, MPO positifs) et monocytaire (CD14, CD4, CD11b, CD11c, CD64, CD36, lysozyme positifs) peuvent aider au diagnostic. Un asynchronisme de maturation est souvent observé. L'expression du CD2 sur les lignées myéloïdes est fréquente mais reste non spécifique.

Au niveau génétique, l'anomalie spécifique est l'inversion du chromosome 16, inv(16) (p13.1q22) associée à son transcrite CFBF-MYH11. D'autres anomalies cytogénétiques sont retrouvées dans 40% des cas. La trisomie 22 (10-15%), la trisomie 8 (10-15%), la trisomie 21 (5%) et la délétion 5q (5%) sont les plus fréquentes. De manière générale, la trisomie 22 est presque toujours présente en association avec l'inversion du chromosome 16 inv(16)(p13.1q22). Dans de rares cas, le chromosome Philadelphie est retrouvé. La mutation c-KIT est détectée dans 30% des cas.

6.3.4 Leucémie aiguë promyélocytaire avec t(15;17) (q22;q12) ; PML-RARA

ICD-O 9866/3

La *leucémie aiguë promyélocytaire avec translocation t(15;17)(q22;q12) ; PML-RARA* est une leucémie aiguë myéloïde qui présente une prédominance promyélocytaire anormale. Elle correspond à la LAM de type 3 (selon la classification FAB). Elle représente 5 à 8% des leucémies aiguës myéloïdes et survient plutôt chez l'adulte jeune. La présentation est marquée par un syndrome hémorragique et des cytopénies profondes. Deux types existent ; la forme typique promyélocytaire ou hypergranulaire et la forme variante microgranulaire, qui est plutôt hyperleucocytaire. Les deux formes sont fréquemment associées à une CIVD.

En ce qui concerne la variante hypergranulaire, dans la moelle osseuse, les noyaux des promyélocytes présentent des irrégularités de formes (réniformes, bilobés) et de taille. Leur cytoplasme présente de nombreuses granulations denses, roses à pourpres pouvant être coalescentes. Ces grosses granulations peuvent cacher le noyau. On retrouve souvent des corps d'Auer en fagots, parfois plus visible sur des cellules éclatées. Des blastes avec un ou plusieurs corps d'Auer (non regroupés en fagots) sont aussi présents. A noter que dans cette variante hypergranulaire, les corps d'Auer présentent une taille plus grande que dans toutes les autres leucémies aiguës myéloïdes. De façon inconstante et parfois en faible nombre, des promyélocytes anormaux typiques sont observés dans le sang périphérique. La réaction de myéloperoxidase est fortement positive dite « explosive ». La réaction d'estérase est non spécifique mais retrouvée positive dans 25% des cas.

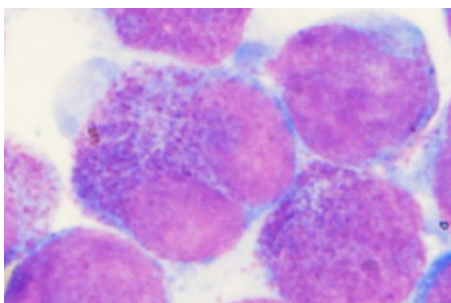


Photo 40 : LAM t(15;17) forme classique
(MO) : Promyélocyte hypergranulaire à
noyau bilobé (obj.100)

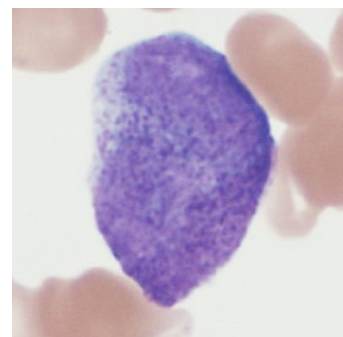


Photo 41 : LAM t(15;17) forme classique
(MO) : Promyélocyte atypique
(hypergranulaire, à noyau irrégulier) (obj.100)

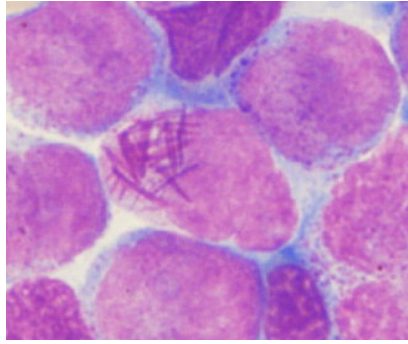


Photo 42 : LAM t(15;17) forme classique (MO) : Corps d'Auer en fagot (obj.100)

La variante microgranulaire est caractérisée par une morphologie différente. Les promyélocytes sont pauvres en grains voire agranulaires avec un noyau bilobé. Les grains présents sont de plus petites tailles que dans la forme hypergranulaire. Un petit nombre de promyélocytes observés dans la forme hypergranulaire peut être retrouvé dans la moelle, ainsi que des corps d'Auer en fagots. La réaction de myéloperoxidase est fortement positive.

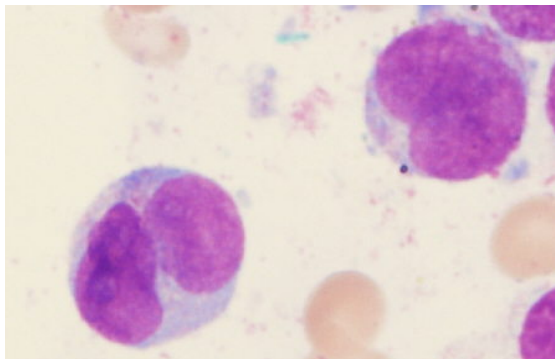


Photo 43 : LAM t(15;17) forme microgranulaire (MO) : Promyélocytes bilobés, hypogranulaires, sans corps d'Auer (obj.100)

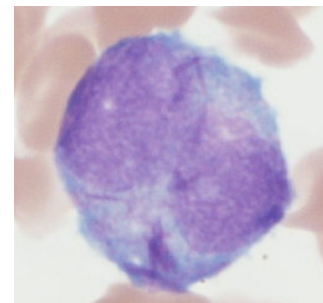


Photo 44 : LAM t(15;17) forme microgranulaire (MO) : Nombreux corps d'Auer non regroupés en fagot dans un promyélocyte bilobé et microgranulaire (obj.100)

Au niveau de l'immunophénotypage, la leucémie aiguë promyélocytaire typique (hypergranulaire) se caractérise par une expression faible ou négative du HLA-DR, CD34, CD11a, CD11b et CD18, une forte expression homogène du CD33 ainsi qu'une forte expression hétérogène du CD13. Le CD117, les marqueurs de la différenciation CD15 et CD65 sont inconstants et faiblement exprimés. L'expression du CD64 est habituelle. Dans les formes microgranulaires, on retrouve fréquemment l'expression du CD34 et du CD2 sur une fraction des cellules. L'expression du CD56 est présente dans 20% (associée à un pronostic péjoratif).

Au niveau génétique, l'anomalie spécifique est la translocation t(15;17) associée à son transcrite PML-RARA. D'autres anomalies cytogénétiques sont retrouvées dans 40% des cas. La plus fréquente est la trisomie 8 (10-15%). Les mutations impliquant FLT3 (FLT3-ITD, FLT3-TKD) sont présentes dans 34 à 45% des leucémies aiguës promyélocyaires. La mutation de FLT3-ITD est davantage retrouvée dans les formes hyperleucocytaires et microgranulaires.

Des translocations variantes du gène RARA sont mentionnées. Voici quelques exemples associés à leurs caractéristiques morphologiques :

- Translocation t(11;17)(q23;q12) donnant le gène de fusion ZBTB16-RARA sous la forme promyélocytaire classique mais aussi des formes sans corps d'Auer, avec des blastes granuleux à noyaux réguliers, des neutrophiles hypolobés et une activité myéloperoxydase forte.
- Translocation t(11;17)(q13;q12) donnant le gène de fusion NUMA1-RARA
- Translocation t(5;17)(q35;q12) donnant le gène de fusion NMP1-RARA avec une majorité de promyélocytes hypergranuleux et une minorité d'hypogranuleux, des corps d'Auer non détectés en microscopie optique.
- Inversion inv(17)(q12;q11.2) donnant le gène de fusion STAT5B-RARA

En cas de présence de ces anomalies génétiques, il faut le mentionner au diagnostic. Les cas avec gènes de fusion ZBTB16-RARA et STAT5B-RARA sont résistants au traitement par ATRA.

6.3.5 Leucémie aiguë myéloïde avec t(9;11)(p22;q23) ; MLLT3-MLL

ICD-O 9897/3

La *leucémie aiguë myéloïde avec translocation t(9;11)(p22;q23) ; MLLT3-MLL* est habituellement associée à une maturation monocyttaire. Elle peut être retrouvée à tout âge mais est plus fréquente chez l'enfant. Elle représente 9 à 12% des leucémies aiguës myéloïdes infantiles et 2% des leucémies aiguës myéloïdes chez l'adulte. Les patients peuvent présenter une CIVD, une infiltration monocyttaire extramédullaire voire un sarcome.

La translocation t(9;11) est typiquement retrouvée dans une leucémie monocyttaire/ myélomonocytaire qu'il y ait, ou non, maturation. Les monoblastes et les promonocytes sont prédominants.

Les monoblastes sont de larges cellules, avec un cytoplasme abondant plus ou moins basophile. Ils peuvent présenter des pseudopodes, de fines granulations azurophiles et des vacuoles. Le noyau est plutôt rond, avec une chromatine finement réticulée, avec un ou plusieurs nucléoles de taille importante. Les promonocytes ont un noyau plus irrégulier, avec des replis. Leur cytoplasme est moins basophile, quelquefois granuleux avec de grosses granulations et des vacuoles. Ces précurseurs monocytaires sont habituellement positifs à la réaction non spécifique d'estérase. L'activité myéloperoxidase est faible ou négative pour les monoblastes. Au final, les aspects des monoblastes et des promonocytes sont associés en proportion variable selon les cas.

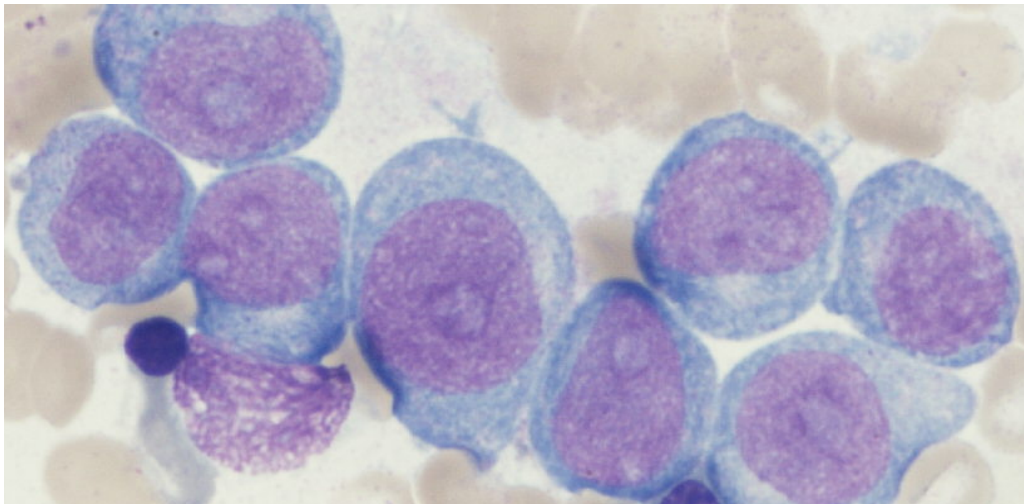
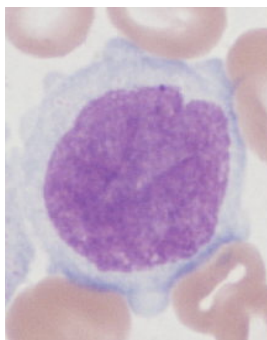
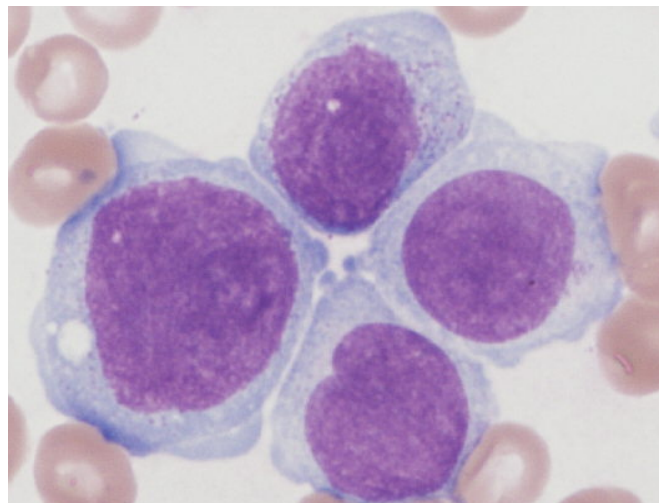


Photo 45 : LAM t(9;11) (MO) : Population homogène de monoblastes (obj.100)



*Photo 46 : LAM t(9;11) (MO) :
Promonocyte (obj.100)*



*Photo 47 : LAM t(9;11) (MO) : Un monoblaste (à droite),
trois promonocytes (à gauche) (obj.100)*

Au niveau de l'immunophénotypage, la leucémie aiguë myéloïde avec la translocation t(9;11)(p22;q23) est associée à une forte expression du CD33, CD65, CD4 et du HLA-DR et à une faible expression du CD13, CD34 et du CD14. Chez l'adulte, on retrouve une forte expression de marqueurs monocytaires tels le CD14, CD4, CD11b, CD11c, CD64, CD36, lysozyme avec une expression variable des marqueurs d'immaturation tels CD34, CD117 et CD56.

Au niveau génétique, l'anomalie spécifique est la translocation t(9;11)(p22;q23) ; associée à son transcrite MLLT3-MLL. La trisomie 8 est l'anomalie cytogénétique secondaire associée la plus observée. Plus de 80 variants impliquant une translocation de MLL sont recensés. Mais seule l'anomalie spécifique permet un classement dans cette entité.

6.3.6 Leucémie aiguë myéloïde avec t(6;9)(p23;q34) ; DEK-NUP214

ICD-O 9865/3

La *leucémie aiguë myéloïde avec translocation t(6;9)(p23;q34) ; DEK-NUP214* est une leucémie aiguë myéloïde avec ou sans maturation monocyttaire et souvent associée à une basophilie et une dysplasie multilignée. Elle représente 0,7 à 1,8% des leucémies aiguës myéloïdes. Elle est retrouvée chez l'enfant (médiane à 13 ans) et chez l'adulte (médiane à 35 ans).

Cette LAM s'accompagne classiquement d'une anémie, d'une thrombopénie et quelquefois d'une neutropénie associée. Chez l'adulte, le nombre de leucocytes est généralement plus bas par rapport aux autres LAM, avec 12 G/L en moyenne. Les blastes de cette entité n'ont pas de caractéristiques propres. Ils peuvent présenter des caractéristiques morphologiques et cytochimiques rencontrés dans d'autres LAM (leucémie aiguë promyélocytaire, mégacaryocytaire, avec maturation et myélomonocytaire). Les corps d'Auer sont présents dans un tiers des cas. Les blastes ont une activité myéloperoxydase et peuvent être positifs comme négatifs à la réaction d'estérase.

Dans la moelle osseuse et dans le sang périphérique, on retrouve une basophilie supérieure à 2% dans 44 à 62% des cas. Dans de nombreux cas, des dysplasies granuleuse et érythrocytaire sont mises en évidence. La dysplasie mégacaryocytaire est possible, mais beaucoup moins fréquente.

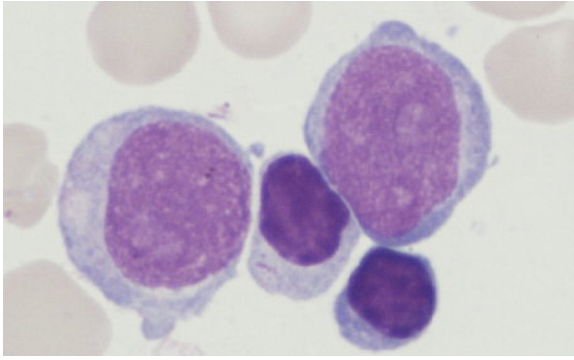


Photo 48 : LAM t(6;9) (MO) : Blastes sans particularité morphologique (obj.100)

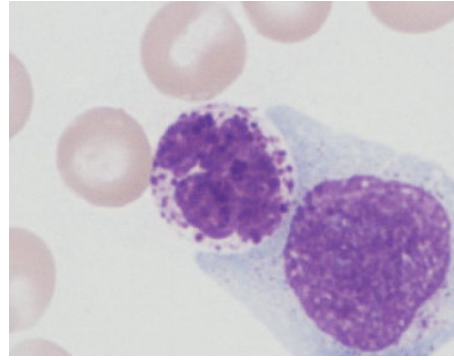


Photo 49 : LAM t(6;9) (MO) : Basophilie (obj 100)

Au niveau de l'immunophénotypage, les blastes expriment des marqueurs myéloïdes comme la myéloperoxidase, CD13, CD33, CD38, et HLA-DR. La plupart expriment le CD34, CD117 et le CD15, certains, le CD64 (marqueur monocytaire) et la moitié sont TdT positifs. L'expression de marqueurs lymphoïdes est rare.

Au niveau génétique, l'anomalie spécifique est la translocation t(6;9)(p23;q34) ; associée à son transcrite DEK-NUP214. Elle est, la plupart du temps, isolée ; mais elle est aussi retrouvée en association à des caryotypes complexes. Les mutations FLT3-ITD sont très fréquentes dans cette entité (69% chez les enfants et 78% chez les adultes). Les mutations FLT3-TKD sont rares.

6.3.7 Leucémie aiguë myéloïde avec inv(3)(q21;q26.2) ; RPN1-EVI1

ICD-O 9869/3

La leucémie aiguë myéloïde avec inversion du chromosome 3, inv(3)(q21;q26.2) ; RPN1-EVI1 est retrouvée *de novo* ou secondairement à un syndrome myélodysplasique. Elle est souvent associée à une dysmégacaryopoïèse sans thrombopénie périphérique. Elle représente 1 à 2% de toutes les leucémies aiguës myéloïdes. On la retrouve plutôt chez l'adulte, sans prédominance homme/femme.

Habituellement, les patients présentent une anémie, un taux de plaquettes normal voire une thrombocytose (7-22% des cas). L'hépatosplénomégalie est un signe clinique retrouvé chez une partie des patients. Cependant, les adénopathies sont rares.

Au niveau cytologique, on retrouve souvent des dysplasies myéloïdes. Dans le sang périphérique, les neutrophiles sont hypogranulaires, avec des anomalies type pseudo-Pelger-Huët, avec ou sans blastose. Les plaquettes sont habituellement de grande taille et hypogranulaires. On peut retrouver des noyaux de mégacaryocytes.

Dans la moelle osseuse, les blastes présentent des morphologies très diverses (type leucémie aiguë promyélocytaire, sans maturation, myélomonocytaire, mégacaryocytaire,...). La dysmégacaryopoïèse est au premier plan. Les mégacaryocytes sont souvent en nombre augmenté, avec une taille diminuée, souvent bilobés voire monlobés. On retrouve des images de mégacaryocytes dystrophiques en amas, en bout de frottis. Une maturation anormale est souvent retrouvée pour les lignées érythrocytaire et granuleuse. Les éosinophiles, les basophiles et les mastocytes peuvent être en nombre augmenté. La cellularité médullaire ainsi que la présence d'une myélofibrose sont variables.

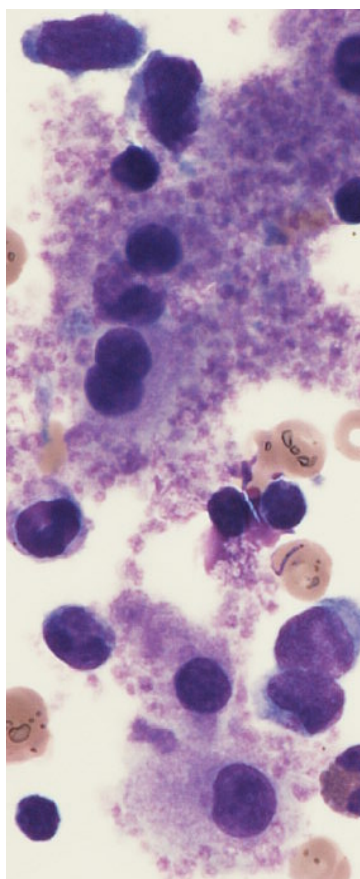


Photo 50 : LAM inv(3) (MO) : Amas de micromégacaryocytes (obj.50)

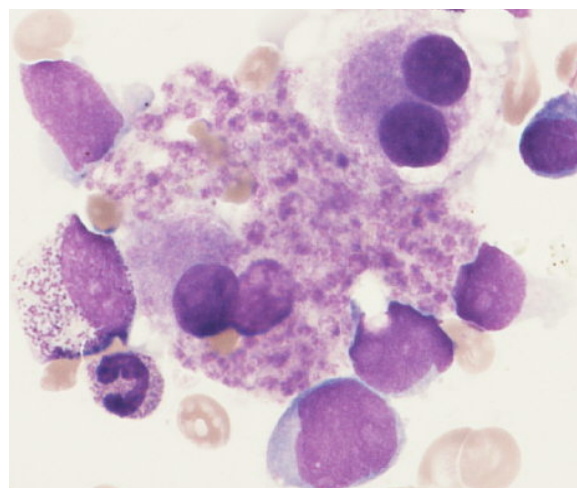


Photo 51 : LAM inv(3) (MO) : Micromégacaryocytes et blastes indifférenciés (obj.50)

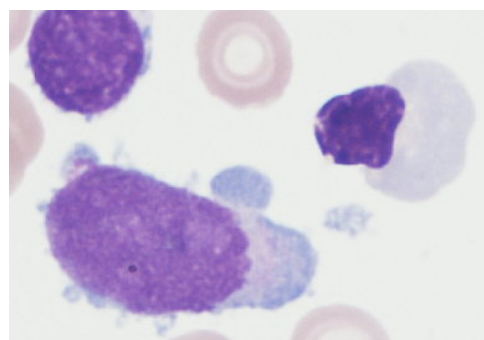


Photo 52 : LAM inv(3) (MO) : Un mégacaryoblaste et un érythroblaste dystrophique (obj.100)

Au niveau de l'immunophénotypage, les blastes expriment des marqueurs myéloïdes comme le CD13, CD33, HLA-DR, CD34 et le CD38 voire des marqueurs mégacaryocytaires comme le CD41 et le CD61. L'expression aberrante du CD7 est décrite.

L'anomalie spécifique est l'inversion du chromosome 3 $inv(3)(q21;q26.2)$ associée à son transcrite RPN1-EVI1. Des anomalies cytogénétiques secondaires sont communes, la monosomie du chromosome 7 (50% des cas), la délétion 5q, des caryotypes complexes. NB : la translocation $t(3;21)(q26;q26.2)$, EVI1-RUNX1 est vue habituellement dans des maladies liées au traitement et n'est pas incluse dans cette catégorie.

6.3.8 Leucémie aiguë myéloïde avec $t(1;22)(p13;q13)$; RBM15-MKL1

ICD-O 9911/3

La *leucémie aiguë myéloïde avec translocation $t(1;22)(p13;q13)$; RBM15-MKL1* présente généralement une différenciation mégacaryocytaire. Elle représente moins de 1% de toutes les leucémies aiguës myéloïdes. Elle est fréquemment retrouvée chez le petit enfant (≤ 3 ans), sans association avec la trisomie 21, avec une médiane à 4 mois. Il existe une prédominance féminine.

On retrouve dans la majorité des cas une anémie, une thrombopénie, une hyperleucocytose modérée et, au niveau clinique, une hépatosplénomégalie.

Au niveau cytologique, on retrouve des mégacaryoblastes de toutes tailles avec divers degrés de différenciations. Leur noyau est discrètement irrégulier, avec une chromatine fine avec un à trois nucléoles. Leur cytoplasme est basophile, souvent agranulaire et peut présenter des *blebs* ou pseudopodes.

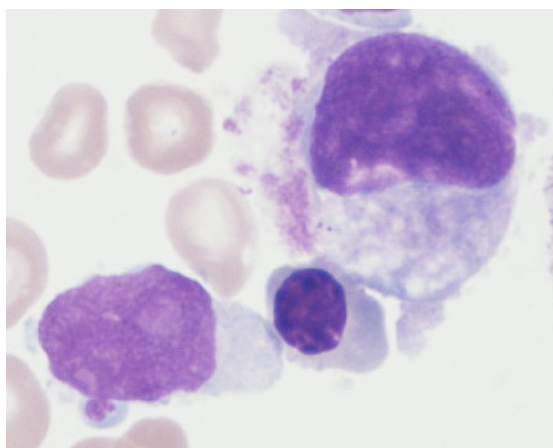


Photo 53 : LAM $t(1;22)$ (MO) : Blastes à différenciation mégacaryoblastique (obj.100)

La moelle osseuse est normocellulaire à hypercellulaire. La fibrose est habituellement présente. Ceci explique, pour une partie des patients, que l'on ne retrouve pas toujours plus de 20% de blastes sur les frottis d'aspiration de moelle. Une dysmégacaryopoïèse est fréquente, illustrée par la présence de micromégacaryocytes. Les autres lignées myéloïdes ne sont pas touchées. La coloration au Noir Soudan et la myéloperoxidase sont négatives pour les mégacaryoblastes.

Au niveau immunophénotypage, les mégacaryoblastes expriment des marqueurs plaquettaires : glycoprotéines IIb/IIIa (CD41) et glycoprotéines IIIa (CD61). Leur expression cytoplasmique est plus spécifique. La glycoprotéine Ib (CD42) est exprimée par des formes plus matures. L'expression du CD36 est caractéristique. L'expression de marqueurs myéloïdes est possible (CD13, CD33, mais pas la myéloperoxidase). Les CD34, CD45 et HLA-DR sont souvent négatifs.

Au niveau génétique, l'anomalie spécifique est la translocation t(1;22)(p13;q13), associée à son transcrit RBM15-MKL1. Dans la majorité des cas, cette anomalie est isolée.

6.3.9 Leucémies aiguës myéloïdes avec anomalies génétiques

Ce nouveau groupe de leucémies aiguës myéloïdes est d'une importante diversité. Les mutations impliquées sont nombreuses et les plus fréquentes sont NPM1, FLT3 et CEBPA. La classification OMS 2008 en distingue deux de façon provisoire pour leur valeur pronostique plutôt favorable ; il s'agit des mutations NPM1 et CEBPA.

6.3.9.1 Leucémie aiguë myéloïde avec mutation NPM1

ICD-O 9861/3 (prov.)

Dans les leucémies aiguës myéloïdes, la mutation du gène NPM1 est la mutation la plus fréquente. C'est la mutation au niveau de l'exon 12 qui est la plus couramment retrouvée. Souvent, il s'agit d'une leucémie aiguë myéloïde *de novo* qui présente des caractéristiques monocytaires ou myélomonocytaires, chez des patients âgés, avec un caryotype normal.

La prévalence de cette LAM augmente avec l'âge. Elle représente 2-8% des leucémies aiguës myéloïdes de l'enfant, 27-35% de toutes les leucémies aiguës myéloïdes de l'adulte et 45-64% des leucémies aiguës myéloïdes de l'adulte avec caryotype normal. Cette entité présente une prédominance féminine.

Habituellement, on ne retrouve pas d'antécédent de syndrome myélodysplasique ou de néoplasie myéloproliférative. Les patients présentent souvent une anémie et une thrombopénie mais souvent une hyperleucocytose modérée et un taux plaquettaire plus important que dans d'autres leucémies aiguës myéloïdes. Au niveau clinique, on peut retrouver un infiltrat extramédullaire surtout au niveau des gencives, des ganglions et de la peau.

Au niveau cytologique, cette LAM peut se présenter sous diverses formes : sans maturation, érythroblastique ; mais on retrouve le plus fréquemment une leucémie aiguë de type myélomonocytaire ou monocytaire. 80 à 90% de toutes les leucémies aiguës monocytaires présentent une mutation NPM1. Depuis la publication de la classification de l'OMS 2008, il a été établi une fréquence importante de la mutation NPM1 dans un sous-type morphologique dit « *cup-like nuclei* » [15]. Il s'agit d'images d'invagination nucléaire de taille variable.

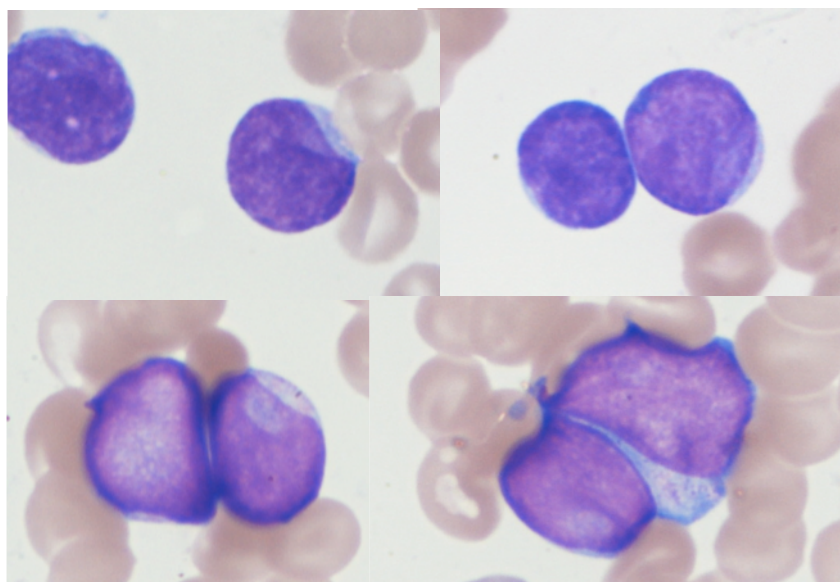


Photo 54 : LAM avec NPM1 (MO) : Blastes avec des invaginations nucléaires ou « *cup-like nuclei* » (obj.100)

On peut retrouver une dysplasie multilignée pour une partie des patients. Ces cas ont souvent un caryotype normal et des blastes CD34 négatifs. Dans la *LAM avec mutation NPM1*, la moelle osseuse est habituellement hypercellulaire. La blastose médullaire est généralement plus importante que dans les autres leucémies aiguës avec caryotype normal.

Au niveau de l'immunophénotypage, on retrouve, en plus de marqueurs myéloïdes (CD13, CD33, MPO), des blastes avec des marqueurs monocytaires (CD14, CD11b) et macrophagique (CD68). La caractéristique la plus marquante est le manque d'expression du CD34 par les blastes.

Au niveau génétique, 85 à 95% des *leucémies aiguës myéloïdes avec mutation NPM1* présentent un caryotype normal. Cependant, les anomalies chromosomiques secondaires sont la trisomie 8 et la délétion 9q. D'autres mutations accompagnent souvent la mutation NPM1 ; la plus courante est FLT3-ITD (40% des cas).

6.3.9.2 Leucémie aiguë myéloïde avec mutation CEBPA

ICD-O 9861/3 (prov.)

Dans la *leucémie aiguë myéloïde avec mutation CEBPA*, on rencontre souvent des critères morphologiques des leucémies aiguës myéloïdes avec maturation, sans maturation, ou même myélomonocytaire ou monocytaire. Elle survient habituellement *de novo*.

Cette entité représente 6 à 15% de toutes les leucémies aiguës myéloïdes *de novo* et 15 à 18% de toutes les LAM avec caryotype normal. Aucune influence de l'âge ou du sexe n'a été détectée entre les leucémies aiguës myéloïdes avec la mutation CEBPA et sans la mutation CEBPA.

En comparaison des leucémies aiguës myéloïdes sans la mutation CEBPA, les patients ont tendance à présenter un taux d'hémoglobine plus élevé, des plaquettes basses, un taux de LDH bas et un taux de globules blancs augmenté. Au niveau clinique, les adénopathies ou le *sarcome myéloïde* ont une fréquence plus faible.

6.4 Leucémie aiguë myéloïde associée à des signes de myélodysplasie

ICD-O 9895/3

La *leucémie aiguë myéloïde associée à des signes de myélodysplasie* présente, par définition, 20% ou plus de blastes dans le sang périphérique et/ou médullaire. Elle se caractérise par des signes morphologiques de myélodysplasie et/ou un antécédent de SMD ou de néoplasie myélodysplasique myéloproliférative et/ou des anomalies cytogénétiques liées aux syndromes myélodysplasiques. On ne retrouve pas dans cette entité d'anomalie cytogénétique récurrente ou d'antécédent de radiothérapie ou de chimiothérapie. La *leucémie aiguë myéloïde associée à des signes de myélodysplasie* représente 24 à 35% des LAM. Elle touche plutôt les patients âgés et rarement les enfants.

Au niveau cytologique, une pancytopenie sévère est fréquente. Dans la plupart des cas, les signes cytologiques de myélodysplasie sont francs. La classification OMS 2008 préconise qu'au moins la moitié des éléments de deux lignées myéloïdes soient touchées pour affirmer une véritable myélodysplasie. La nature de ces signes peut être très diverse, sans signes de spécificité de cette entité. Les illustrations sont ici à titre d'exemple.

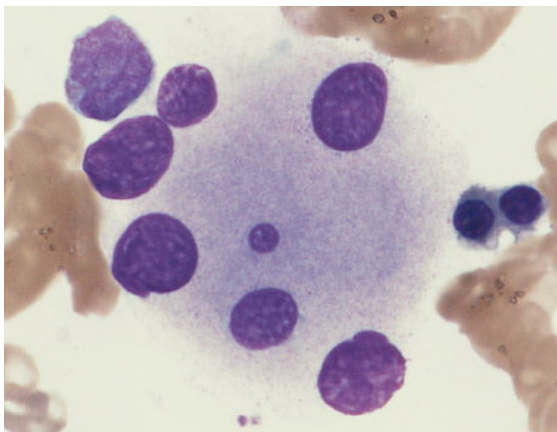


Photo 55 : (MO) : Mégacaryocyte dystrophique de petite taille (multinucléé ou en « sac de bille »)
(obj.100)

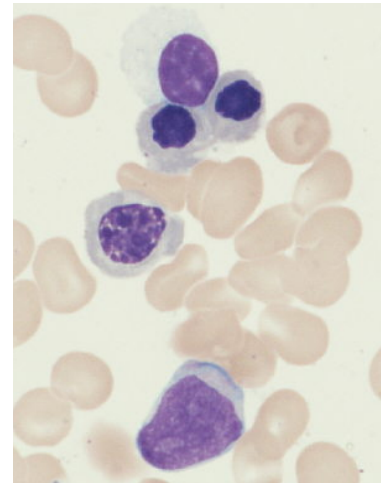


Photo 56 : (MO) : Dysérythropoïèse marquée et un blaste indifférencié
(obj. 50)

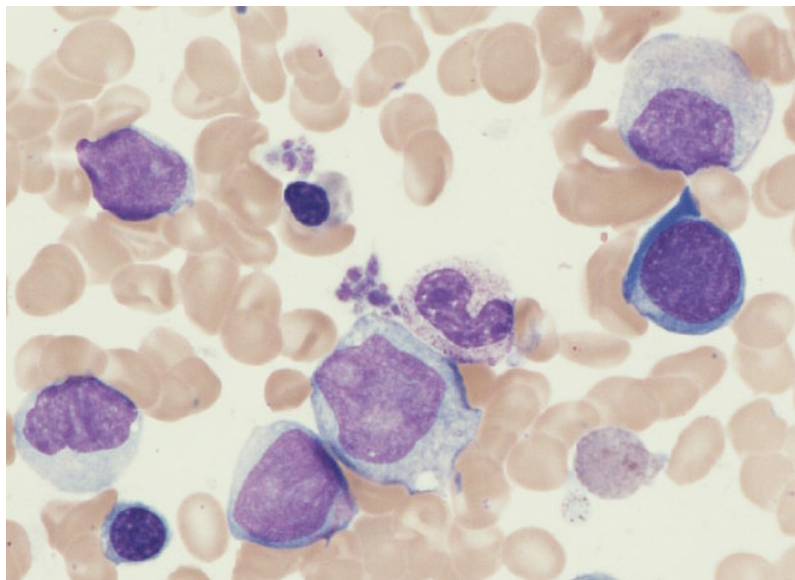


Photo 57 : (MO) : Dysérythropoïèse, dysgranulopoïèse associées à des myéloblastes (obj.50)

Au niveau de l'immunophénotypage, pour les cas avec des anomalies sur les chromosomes 5 et 7, l'expression du CD34, du TdT et du CD7 par les blastes est augmentée. Pour les cas avec un antécédent de SMD, l'expression du CD34 est exprimée seulement sur une fraction de blastes avec une expression faible du CD38 et/ou du HLA-DR. Les blastes expriment habituellement les marqueurs myéloïdes CD13 et CD33. L'expression aberrante du CD56 et du CD7 est fréquente.

Au niveau cytogénétique, les caryotypes complexes ainsi que les délétions del(7q) et del(5q) sont les plus fréquentes. La translocation t(3;5)(q25;q34) est souvent associée à des patients plus jeunes. Les anomalies cytogénétiques récurrentes t(6;9)(p23;q34) et inv(3)(q21;q26.2) présentent des signes de myélodysplasie mais ne peuvent pas entrer dans cette entité. Les translocations t(11;16)(q23;p13.3) et t(2;11)(p21;q23) impliquent le réarrangement 11q23 (MLL) et sont souvent associées aux thérapies anticancéreuses cytotoxiques ; donc non classables ici. Cela implique une plus grande vigilance au niveau de la recherche des antécédents médicaux et médicamenteux.

Les mutations NPM1 et/ou FLT3 sont retrouvées dans la *LAM associée à des signes de myélodysplasie*. La plupart des cas avec mutation NPM1 ont un caryotype normal, des blastes CD34 négatifs et aucun antécédent de SMD. Cependant, la présence d'anomalies cytogénétiques liées aux syndromes myélodysplasiques devrait primer sur la détection d'une mutation NPM1 ou CEBPA à des fins de classification jusqu'à ce que l'importance de telles combinaisons génétiques rares soit clarifiée. Pour les patients présentant une *leucémie aiguë myéloïde associée à des signes de myélodysplasie* et un caryotype normal, les renseignements sur l'état mutationnel de NPM1, CEBPA et FLT3 donnent des informations pronostiques et sont à mentionner au diagnostic.

Le diagnostic de *leucémie aiguë myéloïde associée à des signes de myélodysplasie* est posé si ces 4 critères diagnostiques sont retrouvés :

- Blastose sanguine et/ou médullaire \geq 20%
- Absence d'antécédent de traitement cytotoxique et/ou de radiothérapie
- Absence de ces anomalies cytogénétiques récurrentes :
 - t(8;21)(q22;22)
 - inv(16)(p13.1q22)
 - t(15;17)(q22;q12)
 - t(9;11)(p22;q23)
 - t(6;9)(p23;q34)
 - inv(3)(q21;q26.2)
 - t(1;22)(p13;q13)
- Présence de l'un (ou plusieurs) de ces critères évoquant une myélodysplasie :
 - Signes cytologiques de dysplasie significative sur 2 lignées minimum
 - Antécédent d'un syndrome myélodysplasique
 - Antécédent d'une néoplasie myélodysplasique myéloproliférative
 - Présence de l'une (ou plus) de ces anomalies cytogénétiques suivantes :
 - Monosomie 7, del(7q), monosomie 5, del(5q), inv(17q), monosomie 13, del(13q), del(11q), del(12p), del(9q), idic(X) (q13), t(11;16) (q23;p13.3), t(3;21)(q26.2;q22.1), t(1;3)(p36.3;q21.1), t(2;11) (p21;q23), t(5;12)(q33;p12), t(5;7)(q33;q11.2), t(5;17)(q33;p13), t(5;10)(q33;q21), t(3;5)(q25;q34)

6.5 Néoplasies myéloïdes associées aux thérapies

ICD-O 9920/3

Cette entité inclut les leucémies aiguës myéloïdes (LAM-t), les syndromes myélodysplasiques (SMD-t) ainsi que les néoplasies myélodysplasiques myéloprolifératives (SMD/NMP-t) survenant comme une complication d'une chimiothérapie ou d'une radiothérapie cytotoxique administrée préalablement dans le cadre d'une néoplasie ou non. Même si morphologiquement on retrouve des caractéristiques d'hémopathies malignes myéloïdes diverses, elles doivent toutes être considérées comme une seule et même entité. Les transformations blastiques de toutes les néoplasies myéloprolifératives sont à exclure de ce classement.

Elles représentent entre 10 et 20% de toutes les leucémies aiguës myéloïdes, les syndromes myélodysplasiques et les néoplasies myélodysplasiques myéloprolifératives confondus.

Au diagnostic, la manifestation principale est un syndrome myélodysplasique pour 65 à 75% des cas, puis les leucémies aiguës myéloïdes (20-30%) et les néoplasies myélodysplasiques myéloprolifératives (environ 5%). L'incidence varie selon la pathologie et les traitements utilisés. Le risque augmente avec l'âge pour les agents alkylants et la radiothérapie tandis qu'il est similaire à tout âge pour les inhibiteurs de topoisomérases de type II.

Les agents cytotoxiques les plus couramment impliqués sont listés dans le tableau ci-dessous. Mais d'autres thérapeutiques comme l'hydroxyurée, les radio-isotopes, les facteurs de croissance hématopoïétiques la L-asparaginase, sont aussi décrits comme potentiellement leucémogènes. Les caractéristiques cliniques, morphologiques et génétiques sont souvent en rapport avec le traitement reçu.

Tableau XIX : Principaux agents cytotoxiques

| | |
|--|--|
| Agents alkylants | Melphalan, cyclophosphamide, moutarde à l'azote, chlorambucil, busulfan, carboplatine, cisplatine, dacarbazine, procarbazine, carmustine, mitomycine C, thiotepa, lomustine, etc |
| Radiations ionisantes | Larges champs touchant la moelle osseuse |
| Inhibiteurs des topoisomérases II | Etoposide, teniposide, doxorubicine, daunorubicine, mitoxantrone, amsacrine, actinomycine |
| Autres | Antimétabolites : thiopurines, mycophénolate, fludarabine Antimitotiques : vincristine, vinblastine, vindesine, paclitaxel, docetaxel |

Il y a autant d'antécédents liés à des thérapies vis-à-vis des néoplasies hématopoïétiques que des tumeurs solides. 5 à 20% des *néoplasies myéloïdes associées aux thérapies* ne sont pas liées au traitement d'une néoplasie.

Deux évolutions peuvent être différenciées :

- La plus fréquente (environ 70% des cas) survient 5 à 10 ans après l'exposition à des agents alkylants et/ou des radiations ionisantes. On met souvent en évidence un syndrome myélodysplasique (SMD-t) et plus rarement une néoplasie myélodysplasique myéloproliférative (SMD/NMP-t) ou une leucémie aiguë myéloïde (LAM-t). Cette catégorie est souvent associée à une perte de matériel génétique touchant les chromosomes 5 et 7.
- La seconde évolution est plus rapide (1 à 5 ans) et touche 20 à 30% des patients. Les inhibiteurs des topoisomérases II sont davantage retrouvés. La plupart de ces patients présente souvent une leucémie aiguë dès le diagnostic. Des anomalies chromosomiques équilibrées, comme les translocations touchant le gène MLL (11q23) ou le gène RUNX1 (21q22), sont fréquemment observées. Au niveau morphologique, tous les sous-types de leucémies aiguës myéloïdes sont possibles, y compris ceux avec translocation récurrente. Des cas de leucémies aiguës lymphoblastiques sont rapportés (associés à t(4;11)). Si des anomalies cytogénétiques sont retrouvées, il faut les mentionner au diagnostic (cas d'une translocation t(15;17), l'écriture est LAM-t ou SMD-t suivie par l'anomalie cytogénétique).

Au niveau cytologique, la majorité des patients présente des dysplasies sur plusieurs lignées myéloïdes. Le sang périphérique présente une ou plusieurs cytopénies. L'anémie est presque toujours retrouvée avec une macrocytose et une poïkilocytose. Une basophilie est fréquemment rapportée. La moelle osseuse est de richesse variable, une fibrose s'observe dans 15% des cas.

Au niveau génétique, on retrouve un caryotype anormal dans plus de 90% des cas (LAM-t et SMD-t). La cytogénétique est souvent corrélée au temps de latence entre les thérapies et la survenue de la néoplasie. Environ 70% des anomalies sont non-équilibrées : perte partielle ou totale de matériel sur les chromosomes 5 et 7, del(13q), del(20q), del(11q), del(3p), monosomie

17, 18, 21, trisomie 8. Cela concerne fréquemment des temps de latence long (plus de 5 ans), avec des signes de dysplasie multilignée.

Pour les 20-30% de cas restant, il s'agit d'anomalies cytogénétiques équilibrées touchant souvent le gène MLL (11q23) ou le gène RUNX1 (21q22) : t(9;11)(p22;q23), t(11;19)(q23;p13), t(8;21)(q22;q22) et t(3;21)(q26.2;q22.1). Mais d'autres translocations sont aussi retrouvées : t(15;17)(q22;q12), inv(16)(p13.1q22). Cela concerne souvent des temps de latence courts (moins de 5 ans) avec une présentation de leucémie aiguë d'emblée.

Pour faire le diagnostic d'une *néoplasie myéloïde associée aux thérapies*, il faut identifier un syndrome myélodysplasique, une leucémie aiguë myéloïde ou une néoplasie myélodysplasique myéloproliférative et retrouver un antécédent de traitement par agents cytotoxiques, radiothérapie ou autre, ayant un rapport de causalité avec la néoplasie hématopoïétique survenue après un temps de latence variable.

6.6 Leucémies aiguës myéloïdes, non spécifiées par ailleurs

| | |
|---|--------------|
| Leucémie aiguë myéloïde peu différenciée | ICD-O 9872/3 |
| Leucémie aiguë myéloïde sans maturation | ICD-O 9873/3 |
| Leucémie aiguë myéloïde avec maturation | ICD-O 9874/3 |
| Leucémie aiguë myélomonocytaire | ICD-O 9867/3 |
| Leucémie aiguë monoblastique et monocytaire | ICD-O 9891/3 |
| Leucémie aiguë érythroblastique | ICD-O 9840/3 |
| Leucémie aiguë mégacaryoblastique | ICD-O 9910/3 |
| Leucémie aiguë basophile | ICD-O 9870/3 |
| Leucémie aiguë myéloïde avec myélofibrose | ICD-O 9831/3 |

6.6.1 Introduction

Cette famille regroupe l'ensemble des leucémies aiguës myéloïdes n'ayant pas été classées dans les précédentes entités : *leucémies aiguës myéloïdes avec anomalies génétiques récurrentes*, *leucémie aiguë myéloïde associée à des signes de myélodysplasie* et *néoplasies myéloïdes associées aux thérapies*.

La description de ces entités provient largement de la classification FAB. Les données épidémiologiques n'ayant pas été modifiées depuis la classification OMS 2001, les valeurs actuelles ont certainement évolué.

Voici les critères indispensables pour classer une leucémie aiguë myéloïde dans cette famille :

- Blastose sanguine et/ou médullaire \geq 20%
- Absence de traitement cytotoxique et/ou de radiothérapie
- Absence des anomalies cytogénétiques récurrentes suivantes :
 - t(8;21)(q22;22)
 - inv(16)(p13.1q22)
 - t(15;17)(q22;q12)
 - t(9;11)(p22;q23)
 - t(6;9)(p23;q34)
 - inv(3)(q21;q26.2)
 - t(1;22)(p13;q13)
- Absence de tous les critères suivants évoquant une myélodysplasie :
 - Signes cytologiques de dysplasie sur 2 lignées au minimum (\geq 50% des éléments dysplasiques)
 - Antécédent d'un syndrome myélodysplasique
 - Antécédent d'une néoplasie myélodysplasique myéloproliférative
- Absence de toutes les anomalies cytogénétiques suivantes :
 - Monosomie 7, del(7q), monosomie 5, del(5q), inv(17q), monosomie 13, del(13q), del(11q), del(12p), del(9q), idic(X) (q13), t(11;16)(q23;p13.3), t(3;21)(q26.2;q22.1), t(1;3)(p36.3;q21.1), t(2;11) (p21;q23), t(5;12)(q33;p12), t(5;7)(q33;q11.2), t(5;17)(q33;p13), t(5;10) (q33;q21), t(3;5)(q25;q34)

6.6.2 Leucémie aiguë myéloïde peu différenciée

ICD-O 9872/3

La *leucémie aiguë myéloïde peu différenciée* ne présente qu'une discrète maturation myéloïde. La nature myéloïde des blastes est démontrée par immunophénotypage et/ou cytochimie. Elle regroupe moins de 5% des leucémies aiguës myéloïdes. La maladie est diagnostiquée à tout âge mais la plupart des patients sont des nourrissons et des adultes âgés.

Au niveau cytologique, on retrouve habituellement une pancytopenie. Une hyperleucocytose peut être relevée, associée à une blastose importante. La moelle osseuse est habituellement hypercellulaire avec une faible différenciation blastique. Les blastes sont plutôt de taille moyenne, à chromatine lâche ; le noyau est rond ou légèrement encoché, avec un ou deux nucléoles. Le cytoplasme des blastes est agranulaire, avec un degré de basophilie variable. Moins fréquemment, les blastes sont de petite taille, avec une chromatine dense, des nucléoles discrets, avec un cytoplasme similaire à ceux des lymphoblastes. Dans de rares cas, il peut y avoir subsistance d'une maturation neutrophile. L'absence de corps d'Auer est constante.

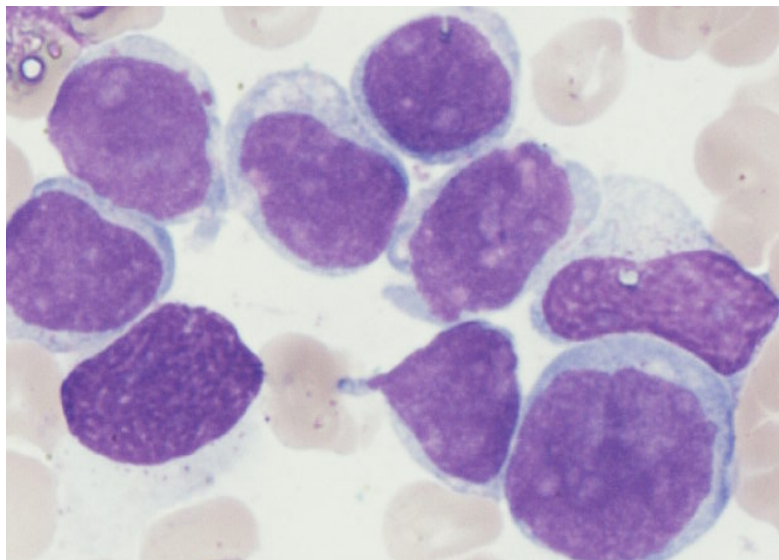


Photo 58 : LAM peu différenciée (MO) : Blastes de taille hétérogène, peu différenciés, à chromatine très fine, avec des nucléoles visibles (obj.100)

Les réactions cytochimiques sont négatives (moins de 3% de positivité) pour la myéloperoxidase, le noir Soudan B (SBB) et le naphthol-ASD-chloroacétate estérase (CAE). Les réactions α -naphthyl-acétate et butyrate-estérase sont aussi négatives mais peuvent présenter une légère positivité non spécifique.

Au niveau de l'immunophénotypage, on retrouve une expression faible des marqueurs hématopoïétiques comme CD34, CD38, HLA-DR. On ne retrouve pas les antigènes associés aux maturations myéloïdes comme CD11b, CD15, CD14, CD64, CD65. Les blastes expriment habituellement le CD13 et/ou le CD117 et le CD33 (dans 60% des cas). Ils ne sont pas associés aux marqueurs lymphoïdes (CD3, CD79a et CD22). Une petite fraction de blastes peut être positive à la myéloperoxidase en cytométrie. La TdT est positive dans 50% des cas. L'expression du CD7 est rapportée dans 40% des cas mais les autres marqueurs lymphoïdes membranaires sont rarement retrouvés.

Au niveau génétique, les plus fréquentes anomalies observées sont le caryotype complexe et la trisomie 8. A noter que le caryotype complexe présente au moins trois anomalies cytogénétiques. Aucune d'entre-elle ne doit être évocatrice de myélodysplasie. Les mutations de RUNX1 se produisent dans 27% des cas, les mutations de FLT3 dans 16 à 22%.

6.6.3 Leucémie aiguë myéloïde sans maturation

ICD-O 9873/3

La *leucémie aiguë myéloïde sans maturation* se caractérise par un pourcentage élevé de blastes médullaires sans maturation neutrophile significative. Les blastes représentent au minimum 90% des cellules (hors lignée érythrocytaire). La nature myéloïde des blastes est démontrée par la cytochimie (MPO ou Noir soudan B) avec plus de 3% de positivité. La présence de corps d'Auer prouve aussi cette nature myéloïde.

Au niveau épidémiologique, la *leucémie aiguë myéloïde sans maturation* comprend entre 5 et 10% de toutes les LAM. Elle est diagnostiquée à tout âge mais la plupart des patients sont adultes, avec un âge médian de 46 ans.

Au niveau cytologique, les patients sont souvent pancytopéniques, en raison d'une hématopoïèse médullaire inefficace. Il existe des formes hyperleucocytaires avec une blastose circulante plus franche. La moelle osseuse est très souvent hypercellulaire, mais des richesses médullaires normales voire diminuées sont rapportées. Les myéloblastes présents sont pourvus de granulations azurophiles, plus ou moins munis de corps d'Auer. Dans d'autres cas, les blastes ont l'allure de lymphoblastes avec une absence de granulations. La réaction des MPO sensibilise la recherche des corps d'Auer.

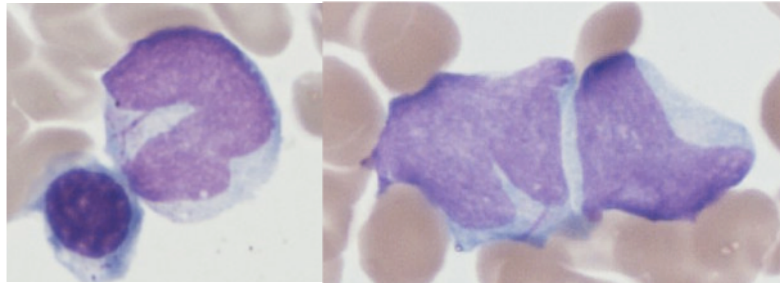


Photo 59 : LAM sans maturation (MO) : Myéloblastes à corps d'Auer fins et isolés (obj.100)

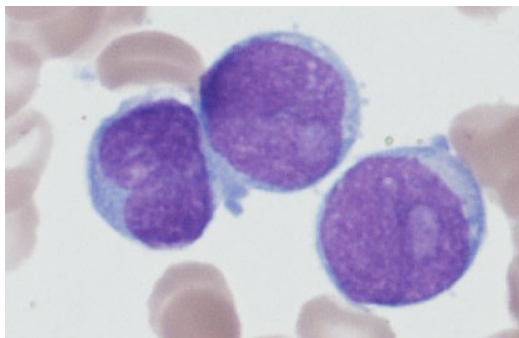


Photo 60 : LAM sans maturation (MO) : Blastés d'allure lymphoïde, sans granulation (obj.100)

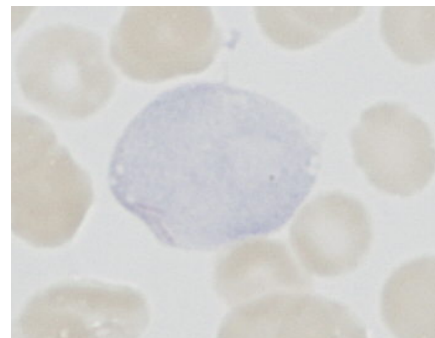


Photo 61 : LAM sans maturation (MO) : Discrets corps d'Auer vus à la coloration MPO (obj.100)

L'immunophénotypage illustre la nature myéloïde des blastés par l'expression de la MPO et un ou plusieurs autres marqueurs myéloïdes comme le CD13, le CD33 et /ou le CD117. Le CD34 et l'HLA-DR sont positifs dans 70% des cas environ. Généralement, il n'y a pas d'expression de marqueurs de maturation granulocytaire (CD15, CD65) ni monocyttaire (CD14, CD64). Le CD11b est exprimé partiellement. Les blastés ne présentent pas de marqueurs cytoplasmiques lymphoïdes (CD3, CD79a, CD22). L'expression du CD7 est retrouvée dans 30% des cas alors que les marqueurs membranaires lymphoïdes (CD2, CD4, CD19) sont décrits dans 10 à 20% des cas.

Il n'a pas été démontré d'association entre cette entité et des anomalies chromosomiques spécifiques.

6.6.4 Leucémie aiguë myéloïde avec maturation

ICD-O 9874/3

La *leucémie aiguë myéloïde avec maturation* se caractérise par la présence de 20% de blastes ou plus dans le sang périphérique et/ou la moelle osseuse, accompagnée d'une maturation. On doit retrouver un minimum de 10% de cellules de la lignée neutrophile et moins de 20% de cellules de la lignée monocyttaire dans la moelle osseuse.

Cette entité regroupe environ 10% des cas de LAM. Elle survient à tout âge mais 20% sont diagnostiquées avant 25 ans et 40% après 60 ans.

Au niveau cytologique, on retrouve souvent une pancytopénie. La blastose et le nombre de leucocytes sont variables. La moelle osseuse est généralement hypercellulaire. Des blastes avec et sans granulation azurophile sont présents. Des corps d'Auer sont fréquemment retrouvés. Des degrés variables de dysgranulopoïèse sont rapportés. Les précurseurs éosinophiles, les basophiles voire les mastocytes sont souvent en nombre augmenté.

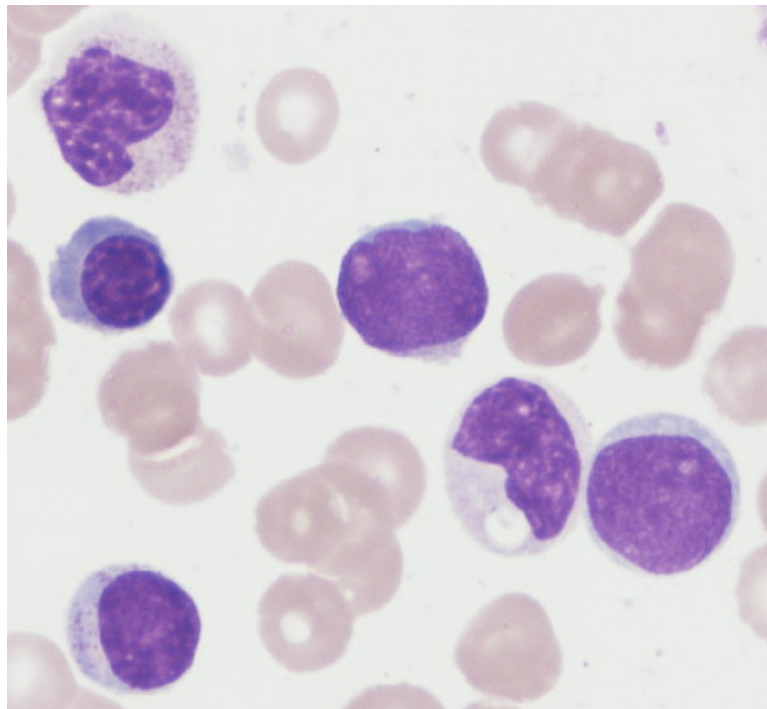


Photo 62 : LAM avec maturation (MO) : Blastes à un rapport N/C élevé associés à une maturation granuleuse dystrophique (obj.100)

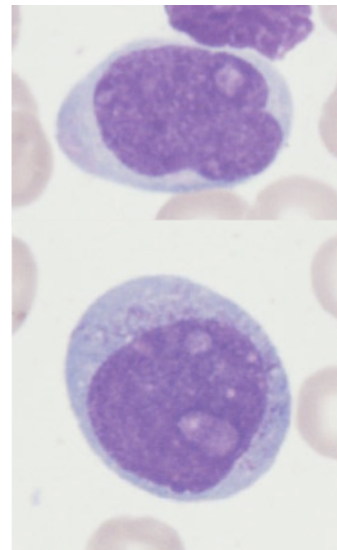


Photo 63 : LAM avec maturation (MO) : Myéloblastes à grains, avec nucléoles proéminents (obj.100)

A l'immunophénotypage, les blastes expriment généralement un ou plusieurs marqueurs myéloïdes (CD13, CD33, CD65, CD11b, CD15). Il y a une expression partielle du CD34, HLA-DR et/ou du CD117. Les marqueurs monocytaires sont habituellement absents (CD14, CD64). L'expression du CD7 est détectée dans 20-30% des cas tandis que l'expression des CD56, CD2, CD19 et CD4 est rare.

Il n'a pas été démontré d'association entre cette entité et des anomalies chromosomiques spécifiques.

6.6.5 Leucémie aiguë myélomonocytaire

ICD-O 9867/3

La *leucémie aiguë myélomonocytaire* se caractérise par une prolifération de précurseurs neutrophiles et monocytaires. La blastose sanguine et/ou médullaire est égale à 20% minimum, ceci en incluant les promonocytes. Dans la moelle osseuse, les éléments des lignées neutrophile et monocytaires sont présents à hauteur de 20% minimum. Une monocytose sanguine, souvent ≥ 5 G/L, est quelquefois retrouvée.

Au niveau épidémiologie, cette entité représente entre 5 et 10% de toutes les LAM. Elle peut survenir à tout âge mais plutôt chez la personne âgée. La médiane d'âge au diagnostic est de 50 ans, avec une légère prédominance masculine (1,4 homme pour 1 femme).

Au niveau cytologique, on retrouve une anémie et une thrombopénie. Le compte des leucocytes peut être élevé, de part la blastose circulante. Les frottis associent, dans les proportions citées plus haut, des monoblastes, promonocytes et myéloblastes (indifférenciés, à grains, à corps d'Auer) et une maturation granuleuse plus ou moins dystrophique.

Au moins 3% des blastes présentent une positivité à la myéloperoxidase. Tous les éléments de la lignée monocytaires ont typiquement une réaction d'estérase non-spécifique (NSE) positive, mais quelquefois faible ou absente. Une double coloration NSE et MPO ou naphthol-ASD-chloroacétate estérase (CAE) peut mettre en évidence les lignées neutrophiles et monocytaires.

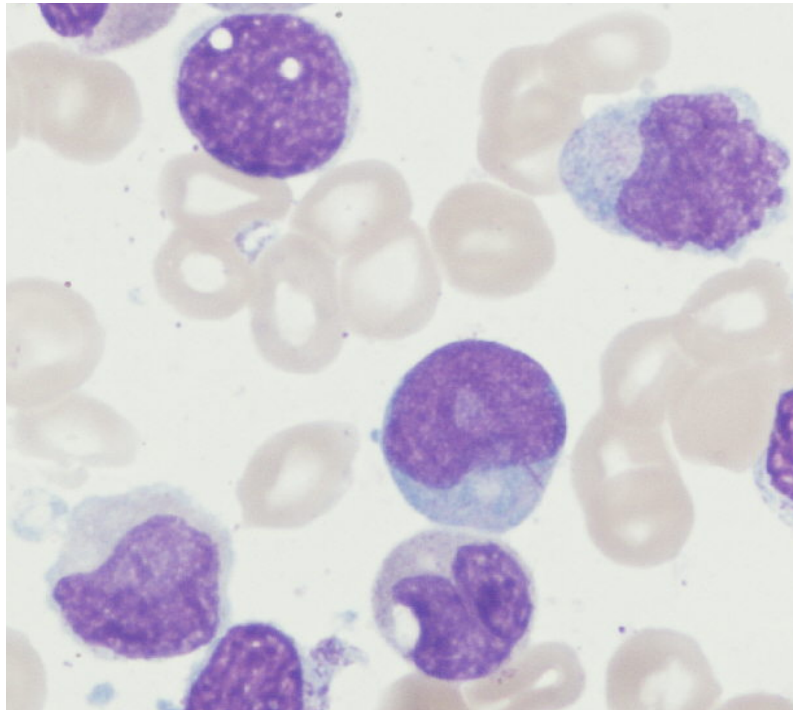


Photo 64 : LAM myélomonocytaire (MO) : Population composite de blastes indifférenciés, de monocytes immatures, de maturation granuleuse dystrophique (obj.100)

A l'immunophénotypage, les blastes expriment les marqueurs myéloïdes (CD13, CD33, CD65, CD15) et une partie exprime des marqueurs monocytaires (CD14, CD4, CD11b, CD11c, CD64, CD36, CD68, CD163 et lysozyme). La coexpression du CD15 et de CD64 est caractéristique de la différenciation monocyttaire. Il y a souvent une population de blastes immatures exprimant le CD34 et/ou le CD117. Dans la plupart des cas, on retrouve HLA-DR et environ 30% pour le CD7. L'expression des autres marqueurs lymphoïdes est rare.

Il n'y a pas d'anomalie chromosomique spécifique ; mais la trisomie 8 est retrouvée dans la majorité des cas.

6.6.6 Leucémie aiguë monoblastique et monocyttaire

ICD-O 9891/3

Les *leucémies aiguës monoblastique et monocyttaire* sont des leucémies aiguës dans lesquelles, au moins 80% des cellules appartiennent à la lignée monocyttaire (incluant les monoblastes, promonocytes et monocytes). Une composante neutrophile inférieure à 20% peut être présente. La leucémie aiguë monoblastique se définit par une majorité de monoblastes ($\geq 80\%$) tandis que la leucémie aiguë monocyttaire se définit par une majorité de promonocytes. Cette LAM correspond respectivement aux LAM de type 5a et 5b de la classification FAB.

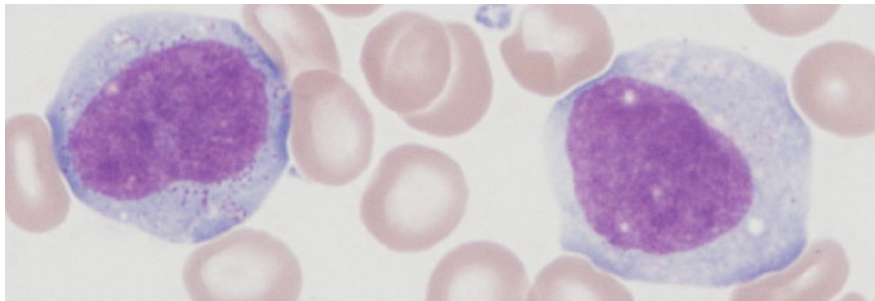


Photo 65 : LAM monoblastique et monocyttaire (MO) : Promonocytes (obj.100)

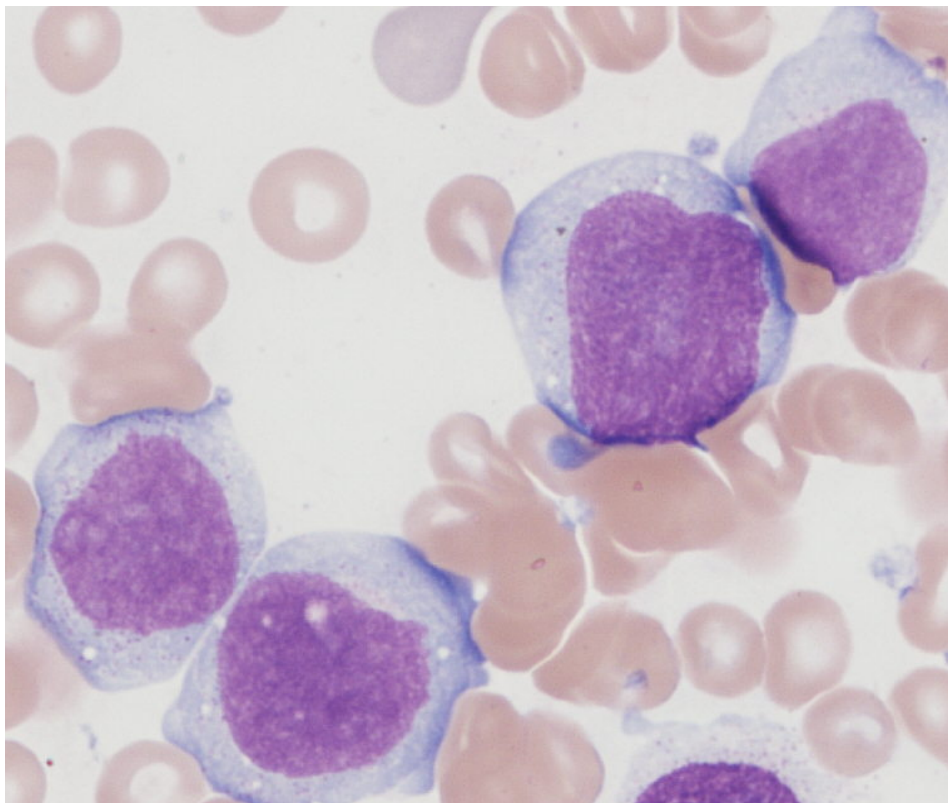


Photo 66 : LAM monoblastique et monocyttaire (MO) : Monoblastes (obj.100)

Les *leucémies aiguës monoblastique et monocyttaire* comptent chacune pour moins de 5% de cas de toutes les LAM. Pour la leucémie aiguë monoblastique, les sujets les plus touchés sont les individus jeunes. En ce qui concerne la leucémie aiguë monocyttaire, la médiane d'âge au diagnostic est à 49 ans, avec une prédominance masculine (1,8 homme pour 1 femme).

La moelle osseuse de cette LAM est habituellement hypercellulaire. Les corps d'Auer sont rares dans la leucémie aiguë monoblastique. On peut observer une hémophagocytose. Les monoblastes et promonocytes présentent une activité estérase non spécifique dans la plupart des cas. Dans plus de 10-20% des cas de leucémie aiguë monoblastique, cette réaction est faible ou négative. Les monoblastes sont typiquement MPO négatifs tandis que les promonocytes peuvent être faiblement positifs.

La classification OMS 2008 rappelle la description des monoblastes et des promonocytes (déjà vue dans le chapitre leucémie aiguë myélomonocytaire). A noter que dans la leucémie aiguë monocyttaire, les promonocytes présentent un noyau plutôt lobulé.

A l'immunophénotypage, ces leucémies expriment, souvent intensément, les marqueurs myéloïdes CD13, CD33 et aussi CD15, CD65. On note généralement l'expression d'au moins deux marqueurs de différenciation monocyttaire (CD14, CD4, CD11b, CD64, CD68, CD36 et lysozyme). Le CD34 est positif dans seulement 30% des cas, tandis que le CD117 et HLA-DR sont souvent exprimés. La myéloperoxidase peut être exprimée, mais plus souvent dans la leucémie aiguë monocyttaire que dans la leucémie aiguë monoblastique. Les expressions aberrantes du CD7 et du CD56 sont présentes dans 25 à 40% des cas.

On retrouve des anomalies cytogénétiques non spécifiques dans la plupart des cas. La translocation t(8;16)(p11.2;p13.3) a été rapportée dans la leucémie aiguë monocyttaire, on l'associe souvent à une hémophagocytose, particulièrement une érythrophagocytose avec coagulopathie.

6.6.7 Leucémie aiguë érythroblastique

ICD-O 9840/3

La *leucémie aiguë érythroblastique* se caractérise par une population érythroblastique prédominante. Deux sous-types sont à différencier en se basant sur la présence ou l'absence d'une composante myéloïde granuleuse:

- L'*érythroleucémie* se définit par la présence, dans la moelle osseuse, d'au moins 50% de précurseurs érythrocytaires (pourcentage sur toutes les cellules nucléées) et d'au moins 20% de myéloblastes (pourcentage sur toutes les cellules nucléées hors lignée érythrocytaire). On retrouve donc une composante myéloïde granuleuse significative.

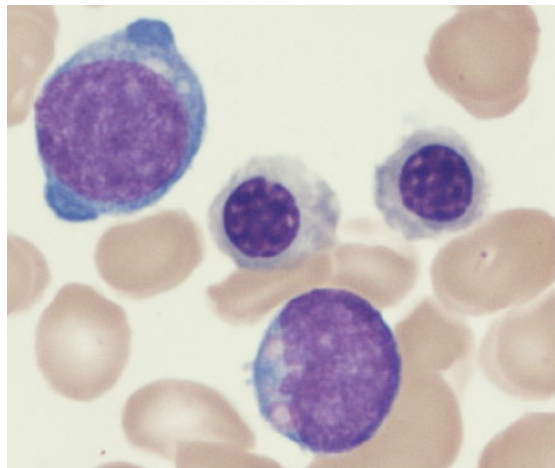


Photo 67 : LAM érythroblastique (MO) : Population composite d'érythroblastes et de blastes indifférenciés (obj.100)

- La *leucémie érythroblastique pure* se définit comme une prolifération néoplasique de cellules immatures, morphologiquement indifférenciées ou proérythroblastiques. On doit retrouver un minimum de 80% des cellules nucléées de la moelle osseuse, engagées dans la lignée érythrocytaire. Il n'y a pas de composante myéloblastique significative.

Au niveau épidémiologie, l'*érythroleucémie* est majoritairement une néoplasie de l'adulte. Elle représente moins de 5% des cas de LAM. La *leucémie érythroblastique pure* est extrêmement rare et peut survenir à tout âge, y compris chez l'enfant.

L'anémie profonde accompagnée d'une érythroblastémie sont des signes courants. L'érythroleucémie survient *de novo* ou est rarement une évolution de néoplasie myéloproliférative. Quand elle fait suite à un syndrome myélodysplasique, elle doit être classée dans la *leucémie aiguë myéloïde associée à des signes de myélodysplasie*.

Dans l'*érythroleucémie*, tous les stades de la maturation érythrocytaire sont retrouvés. Les précurseurs érythrocytaires sont dysplasiques à des degrés divers, possiblement avec des signes de pseudo-mégaloïdisme, des noyaux plurinucléés. Les cytoplasmes des formes immatures (proérythroblastes) contiennent fréquemment des vacuoles mal délimitées, pouvant être coalescentes. Ils sont positifs au PAS. Les myéloblastes sont de taille moyenne et renferment quelques granulations cytoplasmiques et occasionnellement des corps d'Auer. L'OMS rapporte que la dysgranulopoïèse et la dysmégacaryopoïèse sont communes mais, pourtant, dans ce cas, le classement est une *LAM associée à des signes de myélodysplasie*. La MPO et les colorations CAE et SBB sont souvent positives.

Dans la *leucémie érythroblastique pure*, on retrouve de nombreux érythroblastes de taille moyenne à grande avec des noyaux ronds, une chromatine fine et un ou plusieurs nucléoles. Le cytoplasme présente une basophilie intense, des vacuoles et quelquefois des grains. Il s'agit des proérythroblastes similaires à ceux décrits pour l'*érythroleucémie*. Ils sont souvent positifs au PAS. Occasionnellement, des petits blastes ressemblant à des lymphoblastes sont observés. Les cellules sont négatives à la MPO et à la coloration SBB. En revanche, on retrouve une activité CAE.

A l'immunophénotypage, les érythroblastes de l'*érythroleucémie* sont généralement négatifs pour les marqueurs myéloïdes et positifs à la glycophorine et l'hémoglobine A (sauf pour les formes immatures). Une expression aberrante mais faible du CD71 est possible. L'immunophénotype correspond à ceux des leucémies sans différenciation ou peu différenciées.

En ce qui concerne la *leucémie érythroblastique pure*, on retrouve l'expression de la glycophorine et l'hémoglobine A (sauf pour les formes immatures) et une absence des marqueurs myéloïdes. Les blastes sont souvent négatifs pour le HLA-DR et le CD34, et quelquefois positifs pour le CD117. Le CD36 est habituellement positif mais reste non spécifique (monocytes et mégacaryocytes). Les marqueurs mégacaryocytaires sont typiquement négatifs (CD41, CD61) ou partiellement exprimés.

Au niveau génétique, les plus fréquentes anomalies observées sont le caryotype complexe et la trisomie 8. Aucune d'entre-elles ne doit être évocatrice de myélodysplasie.

6.6.8 Leucémie aiguë mégacaryoblastique

ICD-O 9910/3

La *leucémie aiguë mégacaryoblastique* présente au moins 20% de blastes dont au moins 50% sont de la lignée mégacaryocytaire. Elle est retrouvée autant chez l'adulte que chez l'enfant. Elle reste peu fréquente avec moins de 5% des cas de LAM. Les patients ont souvent une thrombopénie, mais quelquefois une thrombocytose. On peut retrouver des dysplasies sur les lignées neutrophile, érythrocytaire et mégacaryocytaire.

Les mégacaryoblastes sont habituellement de grande taille (12-18 μm) avec un noyau rond, discrètement irrégulier ou découpé, avec une chromatine réticulée et munis de un à trois nucléoles. Le cytoplasme est basophile, souvent agranulaire et peut présenter des *blebs* ou pseudopodes. Dans certains cas, on retrouve en plus des blastes plus petits, avec un rapport nucléo-cytoplasmique élevé, les faisant ressembler aux lymphoblastes.

On peut retrouver des micromégacaryocytes, des fragments mégacaryoblastiques, de grandes plaquettes anormales ainsi que des neutrophiles hypogranulaires. Les micromégacaryocytes sont de petites cellules avec un ou deux noyaux ronds à chromatine condensée et de cytoplasme mature. Ils ne doivent pas être comptés en blastes. Chez certains patients, la fibrose médullaire est importante, le pourcentage de blastes sur le frottis d'aspiration est donc faussé. La biopsie ostéomédullaire doit permettre une meilleure estimation de la blastose.

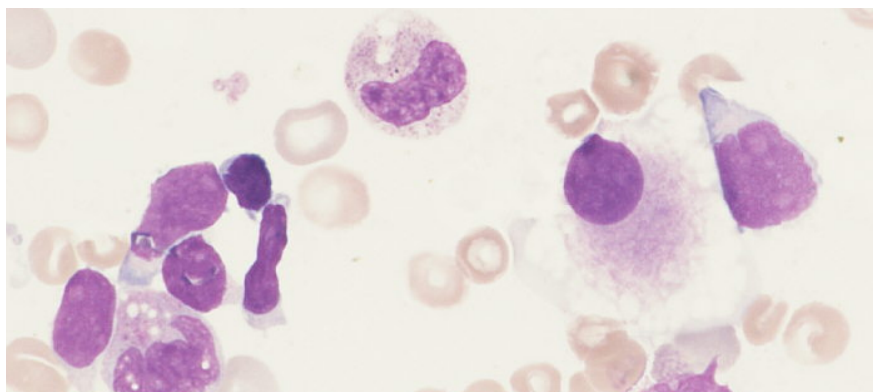


Photo 68 : LAM mégacaryoblastique (MO) : Blastes et maturation dystrophique (obj.50)

Les colorations cytochimiques tels SBB, CAE et MPO sont toujours négatives pour les mégacaryoblastes. Ils peuvent présenter une positivité au PAS, à la phosphatase acide et à la réaction estérasique.

Au niveau de l'immunophénotypage, les mégacaryoblastes expriment un marqueur ou plus des glycoprotéines plaquettaires (CD41, CD61, CD42). La spécificité est plus grande pour les marqueurs cytoplasmiques. Les marqueurs myéloïdes CD13 et CD33 peuvent être positifs. Les CD34, CD45 et HLA-DR sont souvent négatifs, particulièrement chez l'enfant. Le CD36 est typiquement positif. Les blastes sont MPO négatifs comme les autres marqueurs de la différenciation granuleuse. Les marqueurs lymphoïdes ne sont pas exprimés, sauf le CD7.

Il n'a pas été démontré d'association entre cette entité et des anomalies chromosomiques spécifiques.

6.6.9 Leucémie aiguë basophile

ICD-O 9870/3

La *leucémie aiguë basophile* est une leucémie aiguë myéloïde très rare (< 1% des LAM) dont la différenciation s'oriente vers la lignée basophile. Les blastes sont de taille moyenne, avec un rapport nucléo-cytoplasmique élevé dont le noyau est rond, ovale voire bilobé. La chromatine est lâche avec un à trois nucléole(s) marqué(s). Le cytoplasme est modérément basophile et contient de façon variable de grosses granulations très basophiles. Des vacuoles sont quelquefois présentes. Les polynucléaires basophiles sont généralement rares. Une dysérythropoïèse est possible.

La positivité des colorations métachromatiques comme le bleu de toluidine est caractéristique. Aussi, les blastes présentent une positivité à la coloration à la phosphatase acide et au PAS. Par contre, ils sont souvent négatifs pour la SBB, MPO, CAE et la réaction estérasique.

Au niveau de l'immunophénotypage, les blastes expriment des marqueurs myéloïdes (CD13, CD33, CD123, CD203c et CD11b) mais pas les marqueurs monocytaires. Ils peuvent exprimer le CD34 et, contrairement aux basophiles normaux, être HLA-DR positifs mais CD117 négatifs. Les détections de mastocytes CD117, de la tryptase mastocytaire et du CD25 différencient la *leucémie à mastocytes* de la *leucémie aiguë basophile*. Les blastes peuvent exprimer le CD9, le CD22, la TdT mais les autres marqueurs lymphoïdes restent négatifs.

Il n'a pas été démontré d'association entre cette entité et des anomalies chromosomiques spécifiques.

6.6.10 Leucémie aiguë myéloïde avec myélofibrose

ICD-O 9831/3

La *leucémie aiguë myéloïde avec myélofibrose* est une prolifération de blastes myéloïdes associée à une myélofibrose. Il s'agit d'une forme très rare de LAM. Elle survient *de novo*, plutôt chez l'adulte mais des cas de l'enfant ont été rapportés.

Une pancytopenie marquée est presque toujours constante. Dans le sang périphérique, on peut retrouver de rares érythroblastes, les dacryocytes sont absents. Une anisopoïkilocytose et une macrocytose sont possibles. On observe quelquefois une myélémie avec blastose sanguine. On peut noter la présence de plaquettes anormales.

L'aspiration de la moelle osseuse est fréquemment infructueuse. Du fait de la myélofibrose, la biopsie ostéomédullaire est donc nécessaire pour en faire le diagnostic. La moelle osseuse est hypercellulaire par prolifération des lignées myéloïdes : c'est la panmyélose. Les dysplasies myéloïdes sont fréquentes. Les mégacaryocytes sont de petite taille, hypolobés voire monolobés. On peut observer des micromégacaryocytes. La blastose médullaire est variable ; dans la plupart des cas, elle est comprise entre 20 et 25% (biopsie ostéomédullaire).

L'immunophénotypage peut être fait sur la moelle osseuse si le prélèvement le permet ou alors sur les blastes circulants. Les blastes présentent une hétérogénéité phénotypique avec des degrés d'expression des marqueurs myéloïdes divers. Ils expriment le CD34 avec un ou plusieurs marqueurs myéloïdes (CD13, CD33, CD117). La MPO est habituellement négative. Dans quelques cas, on retrouve l'expression de marqueurs érythroblastiques.

L'illustration de la panmyélose par cytochimie, immunophénotypage ou immunohistochimie est un critère important pour les diagnostics différentiels éventuels.

Il n'a pas été démontré d'association entre cette entité et des anomalies chromosomiques spécifiques. Cependant les analyses cytogénétiques présentent souvent des anomalies.

6.7 Sarcome myéloïde

ICD-O 9930/3

Le *sarcome myéloïde* est une masse tumorale constituée de blastes myéloïdes avec ou sans différenciation, survenant dans un tissu autre que la moelle osseuse. Une infiltration extramédullaire de blastes myéloïdes chez un patient leucémique ne peut pas être classée dans cette entité à moins qu'il présente une masse tumorale dans laquelle on ne retrouve plus l'architecture tissulaire. L'âge médian du diagnostic est à 56 ans mais peut survenir à tout âge (1 mois - 89 ans). Il y a une prédominance masculine (1,2 hommes pour 1 femme).

La plupart des tissus peuvent être touchés : la peau, les ganglions, le tractus gastro-intestinal, les os, les tissus mous, les testicules. Dans moins de 10% des cas, le *sarcome myéloïde* est présent sur de multiples sites. Le *sarcome myéloïde* peut survenir *de novo*. Son diagnostic doit être considéré comme un équivalent d'un diagnostic de leucémie aiguë myéloïde. Le sarcome peut précéder ou coïncider avec une LAM. Il peut aussi représenter une transformation blastique d'un syndrome myélodysplasique, d'une néoplasie myéloproliférative ou d'une néoplasie myéloproliférative myélodysplasique. Le *sarcome myéloïde* peut être aussi une manifestation initiale d'un patient en rechute d'une LAM.

Au niveau morphologique, on retrouve habituellement des myéloblastes avec ou sans différenciation neutrophile, que l'architecture tissulaire soit partiellement ou totalement effacée. Dans une proportion importante, on retrouve des morphologies monoblastiques ou myélomonocytaires. Les tumeurs avec une hématopoïèse trilignée, avec une prédominance de précurseurs érythrocytaires ou mégacaryocytaires sont rares et sont souvent liées à une transformation blastique d'une néoplasie myéloproliférative.

La cytochimie et l'immunophénotype sur des ponctions sont utiles à l'identification de la nature blastique d'où le rôle important du cytologiste, en collaboration avec l'anatomopathologiste.

Au niveau cytogénétique, on détecte des anomalies chromosomiques dans 55% des cas. Les plus courantes sont la monosomie 7, la trisomie 8, le réarrangement de MLL, l'inversion du 16, la délétion 16q, 5q, 20q, et la trisomie 11. La mutation de NPM1 est retrouvée dans près de 16% des cas. La translocation t(8;21)(q22;q22) est observée plutôt chez l'enfant.

6.8 Proliférations myéloïdes liées au syndrome de Down

Myélopoïèse anormale transitoire *ICD-O 9898/1*

Leucémies myéloïdes associées au syndrome de Down *ICD-O 9898/3*

Il existe une augmentation du risque leucémogène pour les personnes atteintes du syndrome de Down (ou trisomie 21) de 10 à 100 fois. Deux entités provisoires sont proposées par la classification OMS 2008 : la *myélopoïèse anormale transitoire* et les *leucémies myéloïdes associées au syndrome de Down*.

Près de 20% des LAM et SMD infantiles touchent les enfants atteints du syndrome de Down. Chez les enfants trisomiques de moins de 4 ans, il existe une survenue accrue de leucémies aiguës lymphoïdes et myéloïdes, de manière équilibrée (à noter que pour les enfants du même âge non atteints de trisomie 21, la majorité des leucémies aiguës sont lymphoïdes, à hauteur de 80%).

Pour les deux entités, la LAM de type mégacaryocytaire est la forme la plus fréquemment retrouvée. La leucémie aiguë de type mégacaryocytaire des sujets atteints de trisomie 21 est distincte de la *leucémie aiguë mégacaryoblastique (ICD-O 9910/3)*, ce qui justifie la création de ces entités. Les différences sont de natures morphologiques, immunophénotypiques, moléculaires et cliniques.

Le diagnostic de ces entités se fait selon la même approche que pour les patients non-atteints du syndrome de Down.

6.8.1 Myélopoïèse anormale transitoire

ICD-O 9898/1

Il s'agit de la perturbation principale des nouveau-nés atteints du syndrome de Down. Approximativement 10% des nouveau-nés atteints seraient touchés.

La présentation habituelle est une thrombopénie. Les autres cytopénies sont moins fréquemment rencontrées. On retrouve quelquefois une basophilie sanguine. Une hyperleucocytose est possible avec un pourcentage des blastes sanguins supérieur au pourcentage des blastes médullaires.

Au niveau clinique, on peut retrouver une hépatosplénomégalie. Plus rarement, d'autres complications cliniques sont rencontrées : cardio-pulmonaire, hyperviscosité sanguine, nécrose splénique, fibrose hépatique. Dans la majorité des cas, la rémission est spontanée dans les 3 mois et rares sont les cas graves (potentiellement mortels).

Les caractéristiques morphologiques et immunophénotypiques de la *myélopoïèse anormale transitoire* sont similaires à celles observées dans les LAM de sujets atteints par le syndrome de Down.

Les blastes présentent souvent une basophilie cytoplasmique avec des granulations coalescentes basophiles. Les *blebs* peuvent évoquer leur nature mégacaryocytaire. Dans la moelle osseuse, la dysérythropoïèse et la dysmégacaryopoïèse sont souvent présentes.

Au niveau de l'immunophénotypage, la majorité des blastes sont positifs pour les marqueurs suivants : CD34, CD56, CD117, CD13, CD33, CD7, CD4 faible, CD41, CD42, TPO-R, IL-3R, CD36, CD61, CD71. La majorité des blastes sont négatifs pour les marqueurs suivants : MPO, CD15, CD14 et glycophorine A. Environ 30% des blastes sont positifs pour le HLA-DR.

Au niveau génétique, en plus de la trisomie 21, l'acquisition de la mutation GATA1 est présente dans les blastes.

Dans 20-30% des cas, une leucémie aiguë de type mégacaryocytaire apparaît en 1 à 3 ans.

6.8.2 Leucémies myéloïdes associées au syndrome de Down

ICD-O 9898/3

Dans cette entité, on regroupe sous le vocable « leucémies myéloïdes » les syndromes myélodysplasiques et les LAM. Il s'agit de les considérer comme une même hémopathie maligne sans différence pronostique ni thérapeutique. La valeur seuil de la blastose (médullaire ou sanguine) à 20% ne présente pas, ici, d'intérêt diagnostique.

La très grande majorité des patients atteints a moins de 5 ans. Pour les enfants de moins de 5 ans trisomiques, le risque de survenue de LAM est 50 fois plus élevé que ces mêmes enfants non trisomiques. 1 à 2% des enfants trisomiques développent cette pathologie durant leur 5 premières années dont près de la moitié dans leur premier mois de vie. 20 à 30% des cas sont consécutifs à une *myélopoïèse anormale transitoire*.

Les phases pré-LAM sont comparables à la *cytopénie réfractaire de l'enfant (ICD-O 9985/3 (prov.))* puis à l'*anémie réfractaire avec excès de blastes (ICD-O 9983/3)*. 70% des cas de LAM sont de nature mégacaryocytaire (seulement 3 à 6% chez les enfants non trisomiques).

Dans ces phases pré-LAM, on observe un excès de blastes, une macrocytose des cellules de la lignée érythrocytaire et des dysplasies pouvant être prononcées. Dans les cas de LAM, une blastose périphérique est habituelle, accompagnée quelquefois d'une érythroblastémie. L'anisopoïkilocytose des hématies est souvent marquée. La thrombopénie avec des plaquettes géantes peut être observée.

Dans la moelle osseuse, les blastes possèdent des caractéristiques particulières. Le noyau est rond et discrètement irrégulier. Le cytoplasme est légèrement basophile et peut présenter des *blebs*. Quelquefois, les blastes présentent des granulations coalescentes qui miment des granulations basophiles. Les granulations sont généralement MPO négatives. Les précurseurs érythrocytaires ont souvent des aspects pseudo-mégaloblastiques ou d'autres signes de dysérythropoïèse (érythroblastes multinucléaires, avec des noyaux fragmentés). Des signes de dysgranulopoïèse sont parfois observés. Dans les cas de leucémie aiguë de type mégacaryocytaire, les mégacaryocytes sont de petite taille et en amas. Des micromégacaryocytes sont aussi observés.

L'aspiration de la moelle osseuse peut être difficile voire impossible du fait d'une fibrose réticulinique. Il peut y avoir une hyperplasie érythrocytaire dans les cas de faible blastose mais l'érythropoïèse diminue lors de la progression de la maladie. La lignée neutrophile est habituellement diminuée.

Au niveau de l'immunophénotypage, les blastes de la leucémie aiguë de type mégacaryocytaire du patient atteint du syndrome de Down sont similaires à ceux observés dans la *myélopoïèse anormale transitoire*. Dans la majorité des cas, les blastes sont CD117, CD13, CD33, CD7, CD4, CD42, TPO-R, IL-3R, CD36, CD41, CD61, CD71 positifs et MPO, CD15, CD14, glycophorine A négatifs. Cependant, à l'inverse de la *myélopoïèse anormale transitoire*, les blastes sont CD34 négatifs dans la moitié des cas, CD56 et CD41 négatifs dans 30% des cas.

Pour chacune des autres leucémies aiguës myéloïdes, il y a une correspondance des immunophénotypes avec le type de LAM observé (comme vu dans les LAM, non spécifiées par ailleurs).

Au niveau génétique, en plus de la trisomie 21, on retrouve des mutations somatiques du gène GATA1. Cette anomalie est pathognomonique des proliférations myéloïdes associées au syndrome de Down, mais peut être absente chez l'enfant. Après 5 ans, cette mutation peut manquer, on considère alors la prolifération myéloïde comme un SMD ou une LAM « conventionnelle ». Dans 13 à 44% des cas, la trisomie 8 est présente dans les cas de LAM. A l'inverse, la monosomie 7 est très rare chez ces patients.

6.9 Néoplasie à cellules dendritiques plasmacytoïdes blastiques

ICD-O 9727/3

La *néoplasie à cellules dendritiques plasmacytoïdes blastiques* est une néoplasie agressive avec infiltration cutanée, médullaire et une leucémisation dans 60 à 90% des cas. On la dénomme aussi leucémie aiguë CD4/CD56+ de part sa particularité immunophénotypique.

Il s'agit d'une néoplasie rare avec une prédominance masculine (3,3 hommes pour 1 femme). La majorité des patients sont âgés, mais on peut la retrouver à tout âge, même chez l'enfant. L'âge moyen au diagnostic est de 61-67 ans.

L'infiltration cutanée est quasi-systématique avec des lésions uniques ou multiples, habituellement asymptomatiques à type de nodules, de plaques. Des adénopathies sont retrouvées dans 40-50% des cas. L'infiltration dans la moelle osseuse et dans le sang périphérique peut être minime au diagnostic mais progresse avec l'évolution de la maladie. Des cytopénies peuvent être observées au diagnostic, surtout la thrombopénie, mais restent souvent peu sévères.

Dans la majorité des cas, une phase leucémique fulminante apparaît au terme de l'évolution de la néoplasie. Environ 10 à 20% des cas sont associés ou évoluent vers une LAM (dont la *LAM myélomonocytaire*). Les signes de myélodysplasie peuvent être rencontrés.

Les blastes de la *néoplasie à cellules dendritiques plasmacytoïdes blastiques* ont un noyau irrégulier, avec une chromatine fine et un ou plusieurs petits nucléole. Le cytoplasme est habituellement limité, avec un aspect gris-bleu, agranulaire au Giemsa. Le cytoplasme est pourvu de pseudopodes et de microvacuoles localisées à la périphérie de la membrane cellulaire. Des mitoses sont visibles. On parle d'aspect « miroir à main » ou en « collier de perles ».

En cytochimie, les cellules blastiques sont négatives avec les réactions d'estérases non spécifiques et la myéloperoxidase.

Au niveau de l'immunophénotypage, les blastes expriment le CD4, CD43, CD45RA et CD56. Le CD123, BCDCA-2/CD303, TCL1, CLA et la molécule MxA dépendante de l'interféron alpha sont associés aux cellules dendritiques plasmacytoïdes. Le CD68 est présent dans 50% des cas et la TdT dans un tiers des cas. Le CD56 est très rarement négatif mais la positivité du CD4, CD123 et TCL1 ne doit pas faire éliminer ce diagnostic.

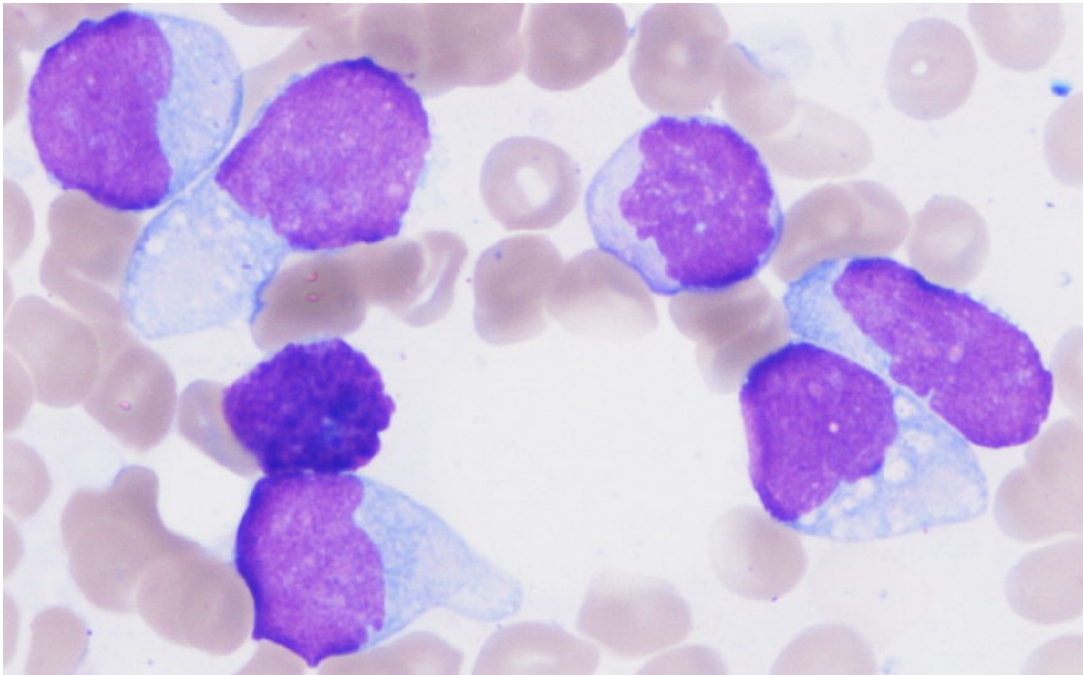


Photo 69 : Leucémie CD4/CD56+ (MO) : Blastes à noyaux irréguliers, à cytoplasmes « émettant des pseudopodes » et pourvus de nombreuses vacuoles (obj.100)

Au niveau génétique, deux tiers des patients présentent un caryotype anormal. Les caryotypes complexes sont fréquents. Voici les principales anomalies cytogénétiques rencontrées : anomalies au niveau 5q21 ou 5q34 (72%), 12p13 (64%), 13q13-21 (64%), 6q23-qter (50%), 15q (43%) et perte du chromosome 9 (28%).

6.10 Référentiels

6.10.1 Recommandations SFH 2009

Le diagnostic de LAM nécessite un examen des frottis sanguins et médullaires (coloration MGG standardisée) par des cytologistes entraînés. Le bilan minimal doit comporter une étude morphologique (critères FAB et signes de dysplasie) et cytochimique (peroxydases), une étude cytogénétique de la moelle (caryotype et FISH), une étude en biologie moléculaire (réarrangements géniques résultant des anomalies chromosomiques). La déclinaison des examens est celle que préconise le référentiel RuBIH. Chaque fois que possible, il faut conserver des blastes viables (cellulothèques), de l'ADN et de l'ARN tumoral, ainsi que du sérum.

6.10.2 RUBIH

Tableau XX : Démarche diagnostique d'une leucémie aiguë myéloïde d'après le Guide de Juste Prescription

| Examen | Niveau | Indispensable/Obligatoire | Recommandé utile au diagnostic et/ou stratification thérapeutique individuelle | En évaluation |
|--|--------|---|--|--|
| Cytomorphologie | | | | |
| NFS | A | oui | | |
| Myélogramme | A | oui | | |
| Classification FAB/OMS 2008 | A | oui | | |
| Cytogénétique et biologie moléculaire | | | | |
| Caryotype médullaire | A | oui | | |
| FISH CEP7 et 5q | A | | si échec caryotype | |
| FISH MLL | A | oui | | |
| AML1-ETO, CDFB-MYH11 et PML-RARA (FISH ou PCR selon le contexte) | A | si échec caryotype ou discordance morphologie/caryotype | | |
| Evi1 (FISH ou PCR selon le contexte) | A | | oui | |
| Typage HLA | A | si allogreffe | | |
| Immunophénotypage moelle ELN | A | si MPO < 10% | | |
| FLT3-ITD | A | oui | | |
| NPM | A | si caryotype normal | | |
| CEBPA | B | si caryotype normal | | |
| dup MLL | B | | hors CBF et défavorable | |
| PGP fonctionnel (efflux Rho123 +/- réversant) | A/B | | | oui |
| OTT-MAL/RBM15-MKL1 | B | | | oui |
| BAALC/ERG | B | | | oui |
| WT1 et AML1 mutation | B | | | hors CBF |
| TET2 et IDH1/2 | B | | | hors CBF et défavorable |
| Ras et cKIT | B | | | oui |
| p53 | B | | | si caryotype complexe et/ou pseudo-pelger, réfractaire |
| Etude pan-génomique CGH, SNP, mC, séquençage HD | B | | | oui |
| Tumorothèque et registre | | | | |
| Cellulothèque | A/B | oui | | |
| Sérothèque | A/B | | oui | |
| Registre | | | IGLAM protocolaire | |

6.11 Conclusion et synthèse

La Société Française d'Hématologie et le RuBIH ne traitent que des leucémies aiguës myéloïdes « classiques » sans évoquer les néoplasies apparentées. Les recommandations de la SFH sont succinctes et s'en remettent au RuBIH. Cependant, elle insiste sur l'analyse des frottis sanguins et médullaires, ce que le Guide de Juste prescription ne précise pas. Il s'agit pourtant d'un préalable indispensable (avec la NFS) avant la mise en œuvre d'autres examens biologiques. Contrairement aux recommandations de la SFH, le RuBIH ne préconise pas l'utilisation de la cytochimie malgré son utilité.

Comme pour les syndromes myélodysplasiques, la SFH et le RuBIH conseillent d'établir le diagnostic des LAM selon les critères FAB et les critères OMS 2008.

Aucune recommandation ne signale l'intérêt d'une éventuelle double lecture cytologique et cytométrique avant l'établissement définitif d'un diagnostic de LAM. Malgré la difficulté du diagnostic ; il est laissé à la liberté du biologiste de faire contrôler son résultat ou non.

Les transcrits AML1-ETO, CBFβ-MYH11 et PML-RARA ne sont demandés qu'en cas d'échec du caryotype, cependant ils sont exigés dans beaucoup de protocoles du sujet jeune dans un délai de 5 jours. Cela oblige à réaliser d'emblée la PCR pour prévenir un éventuel échec du caryotype. Cette situation se pose aussi pour la recherche de mutation NPM1 qui doit être réalisée d'emblée pour pallier à des problèmes de délai de réponse.

En ce qui concerne les LAM « classiques », on peut proposer la démarche diagnostique ci-après qui tient compte de la hiérarchie des critères proposés par la classification OMS 2008. Même si elles sont inutiles au classement, les anomalies génétiques récurrentes ou les mutations NPM1, CEBPA et FLT3 éventuellement présentes doivent être mentionnées au diagnostic.

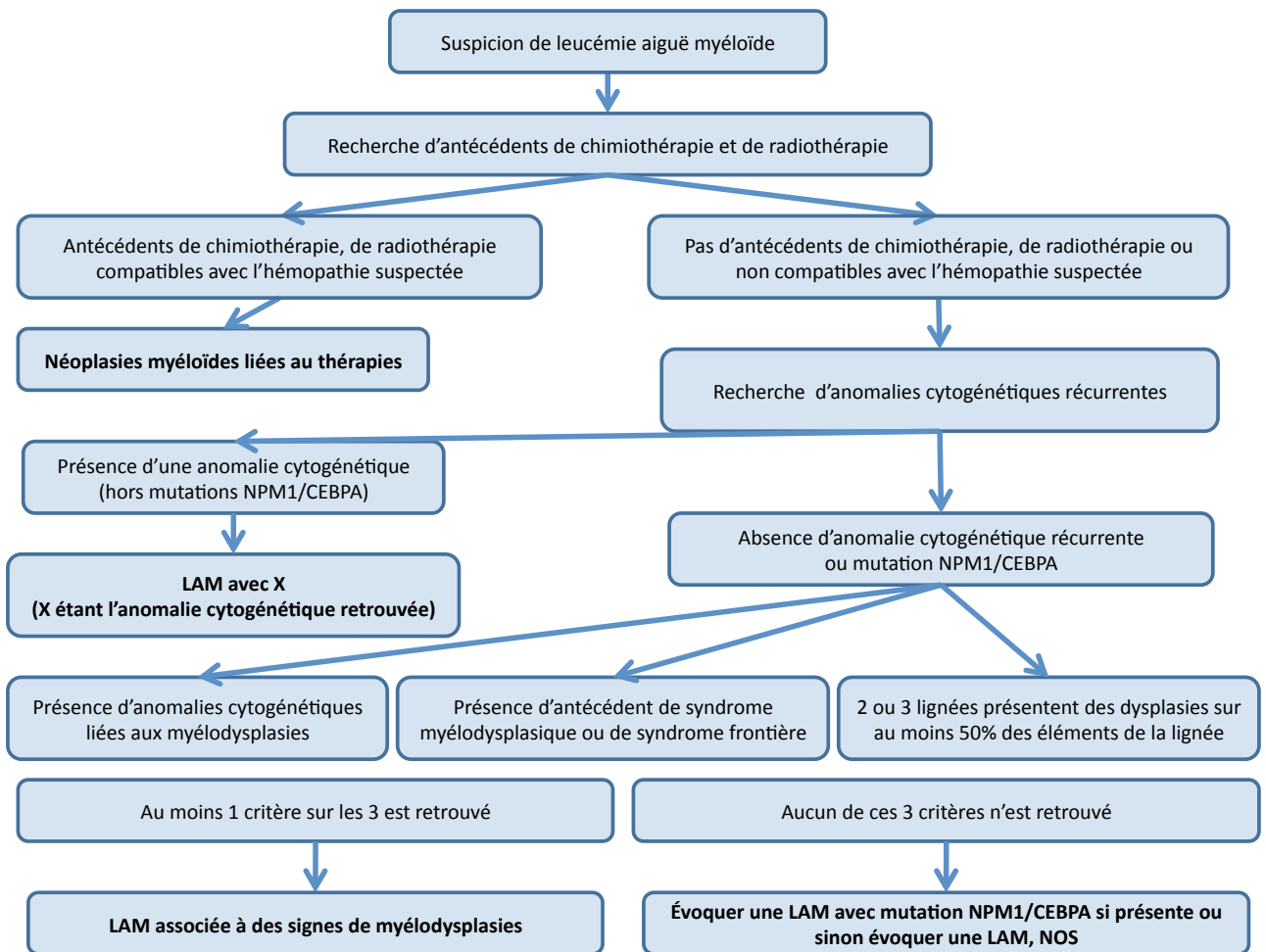


Illustration 13 : Démarche diagnostique d'une leucémie aiguë myéloïde

DEUXIEME PARTIE : ETUDE RETROSPECTIVE DES CAS
DE LEUCEMIES AIGUËS MYELOÏDES DIAGNOSTIQUEES EN
2008 AU CHU DE LIMOGES

1 INTRODUCTION

L'étude retrospective que nous proposons revêt un double objectif. D'abord d'évaluer l'impact de la nouvelle classification OMS 2008 en reclassant des cas d'hémopathies selon les nouveaux critères. Puis, plus globalement, de réaliser une évaluation de pratiques biologiques. L'évaluation des diagnostics de leucémies aiguës myéloïdes au laboratoire d'Hématologie au CHU de Limoges s'est basée sur les référentiels présentés en première partie. L'objectif est d'améliorer cette étape de l'examen. Cette action est en accord avec les exigences définies par la norme ISO EN NF 15189. En effet, cette étape fait partie de la phase post-analytique de l'examen de biologie médicale.

La notion de prestations de conseils est décrite dans la norme et porte sur la manière dont le laboratoire de biologie médicale est amené à conseiller les prescripteurs. L'ordonnance relative à la biologie médicale du 13 janvier 2010 a substantiellement modifié le rôle du biologiste médical dans la prestation de soins au patient. La prestation de conseils devient une obligation à la phase pré-analytique comme à la phase post-analytique de l'examen. Le conseil en matière de choix des examens de biologie médicale et de leur interprétation est donc indispensable en vue de l'obtention de l'accréditation. L'évaluateur Cofrac vérifie ainsi la prise en compte ces différents points de l'acte de biologie médicale dans les procédures ainsi que leur mise en œuvre.

Un autre point important nous concernant est l'établissement du compte-rendu de l'examen. La notion d'interprétation obligatoire est répétée. Les résultats doivent être rendus dans un délai « compatible avec l'état de l'art », estimé à une demi-journée pour les examens « courants ». Le compte-rendu provisoire est interdit.

Le délai de rendu des examens est très hétérogène pour classer formellement une leucémie aiguë myéloïde (1 heure pour la cytologie à 1 semaine ou plus pour la biologie moléculaire). Le cas des LAM est un très bon exemple des problèmes posés par l'application de la norme à la pratique quotidienne : il existe en effet un paradoxe fondamental, *a priori* difficilement contournable, entre le délai de rendu des examens et le caractère urgent du diagnostic. Une réflexion sur la conduite pratique du laboratoire est à initier sur ce sujet pour être conforme aux exigences de la norme au niveau analytique (référentiels) et post-analytique (rendu au clinicien).

Au final, le compte-rendu du laboratoire doit faire la synthèse et apprécier la cohérence des données biologiques (cytologie, cytométrie en flux, cytogénétique, biologie moléculaire) et cliniques voire d'imagerie avec une confrontation clinico-biologique en réunion en comité pluridisciplinaire (RCP), exigée par le RuBIH, qui rejoint totalement la norme ISO EN NF 15189 sur ce point.

Cette étude fournissant des « indicateurs qualité » a comme objectif d'améliorer et d'homogénéiser la qualité de l'interprétation et du compte-rendu des examens par les différents biologistes, concernant le diagnostic des leucémies aiguës myéloïdes, dans des délais satisfaisants.

2 MATERIELS

L'étude rétrospective s'est basée sur toutes les entités de la famille des « leucémies aiguës myéloïdes et néoplasies apparentées » diagnostiquées en 2008. Les phases blastiques de néoplasies myéloprolifératives connues et les rechutes de LAM n'ont pas été comptabilisées. 71 patients ont été recensés dont 66 avec un diagnostic posé en interprétation des examens biologiques.

La démarche diagnostique telle qu'utilisée en 2008 au laboratoire, pour le rendu en temps réel, est représentée par l'organigramme suivant :

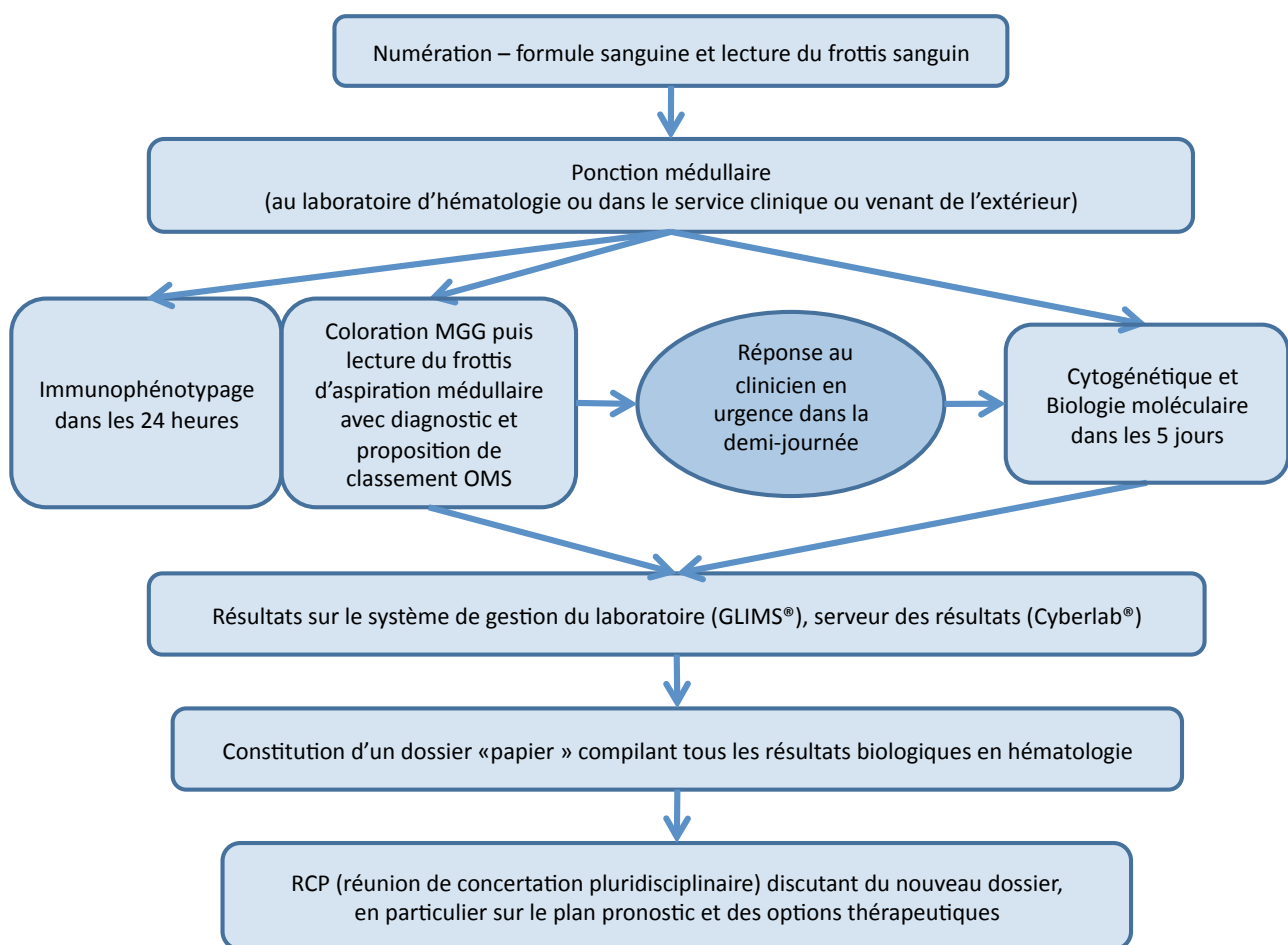


Illustration 14 : Démarche diagnostique en 2008 d'une LAM au laboratoire d'hématologie

NB : Le bilan cytogénétique moléculaire comprend :

- Le caryotype conventionnel (résultat en 5 jours)
- Si protocole : FISH MLL, BCR-ABL, inv(16) (résultat en 5 jours)

En cas d'échec du caryotype et selon la cytologie, la technique FISH est mise en œuvre. L'étude des transcrits de fusion en biologie moléculaire est directement effectuée pour les sujets jeunes :

- Si LAM 3 : t(15;17)
- Si LAM 1, LAM 2, LAM 4 : t(8;21), inv(16), MLL, Cen7 et 5q31

En biologie moléculaire, la recherche de mutations FLT3, NPM1 et WT1 sont systématiques. En cas de cytogénétique normale, la mutation de CEPBA est étudiée.

3 METHODES

Le recueil des données a été fait à l'aide d'un tableur Excel® en reprenant les dossiers de chaque patient et les informations disponibles sur SGL (GLIMS®) et le dossier patient informatisé (Crossway®). Pour tous les patients, une même démarche a été entreprise avec le recueil systématique de ces informations lorsqu'elles étaient disponibles :

- La vérification de l'identité du patient, son âge et son sexe
- Le numéro d'enregistrement SGL
- La date du diagnostic (calcul de l'âge au diagnostic)
- La notion d'antécédents de chimiothérapie, de radiothérapie, de néoplasies à type de syndromes myélodysplasiques, de néoplasies « frontières » utiles à la démarche diagnostique
- Les valeurs de la numération formule sanguine avec la blastose sanguine
- Les résultats de la cytogénétique et/ou de biologie moléculaire
- L'évaluation cytologique des dysplasies myéloïdes (avant les examens de cytogénétique et de biologie moléculaire)
- Le diagnostic et le classement rendu lors de la prise en charge initiale, tel qu'il apparaît dans le compte-rendu du SGL

A l'aide des classifications OMS 2001 et 2008, en corrélation avec les données disponibles et 2 à 3 ans de recul, 2 personnes (un interne et un biologiste) procèdent à une évaluation du diagnostic rendu en 2008 est réalisée (OMS 2001 « initial ») : diagnostic initial validé, diagnostic initial non validé ou non évaluable. Pour chaque diagnostic initial non validé ou non évaluable, une explication et, si possible, un autre diagnostic sont donnés. Si le reclassement porte sur des signes de myélodysplasies non pris en compte lors du diagnostic, les lames sont revues et la myélodysplasie réévaluée selon les critères OMS.

Un nouveau classement (OMS 2001 « revu » à OMS 2008) est aussi proposé. Les cas discordants sont explicités.

4 RESULTATS

Une étude épidémiologique succincte permet de mieux connaître les 71 patients retenus. On dénote une légère prédominance masculine avec 37 hommes pour 34 femmes. La moyenne d'âge est de 69 ans avec un minimum de 24 ans et un maximum à 93 ans. La proportion de patients de 50 ans ou plus est de 89%.

En ce qui concerne les hommes, leur moyenne d'âge au diagnostic est de 67 ans. La proportion de ces patients de 50 ans ou plus est de 81%. En ce qui concerne les femmes, leur moyenne d'âge au diagnostic est de 79 ans. La proportion de ces patientes de 50 ans ou plus est de 97%.

4.1 Epidémiologie descriptive ; résultats des numérations - formules sanguines

La NFS et le dépistage de blastes circulants restent les outils de dépistage essentiels intégrés dans la démarche diagnostique. D'après les résultats des 68 numérations-formules sanguines disponibles sur les 71 cas étudiés, voici les valeurs moyennes toutes LAM confondues :

- Hémoglobine 9,8 g/dL
- VGM 94 f/L
- CCMH 35%
- Réticulocytes 45 G/L
- Plaquettes 95 G/L
- Leucocytes 25 G/L
 - Polynucléaires neutrophiles 2,8 G/L
 - Polynucléaires éosinophiles 0,1 G/L
 - Polynucléaires basophiles 0,02 G/L
 - Monocytes 1,6 G/L
 - Blastose sanguine 28%

D'une manière générale, les cytopénies peuvent être des signes d'appel hématologiques très évocateurs, surtout en cas de bicytopénie et de pancytopénie. En effet, dans notre étude, quasiment tous les patients présentaient un de ces signes (un seul patient sans cytopénie mais avec une blastose circulante). Au final, 8 patients ne présentaient qu'une cytopénie isolée, 21 présentaient une bicytopénie et 38 présentaient une pancytopénie.

Au total, les trois critères cytologiques les plus fréquents sont l'anémie, la thrombopénie et la présence d'une blastose périphérique. Dans notre étude, on retrouve toujours au moins un de ces paramètres. La figure ci-dessous illustre la fréquence de ces critères en combinaison entre-eux.

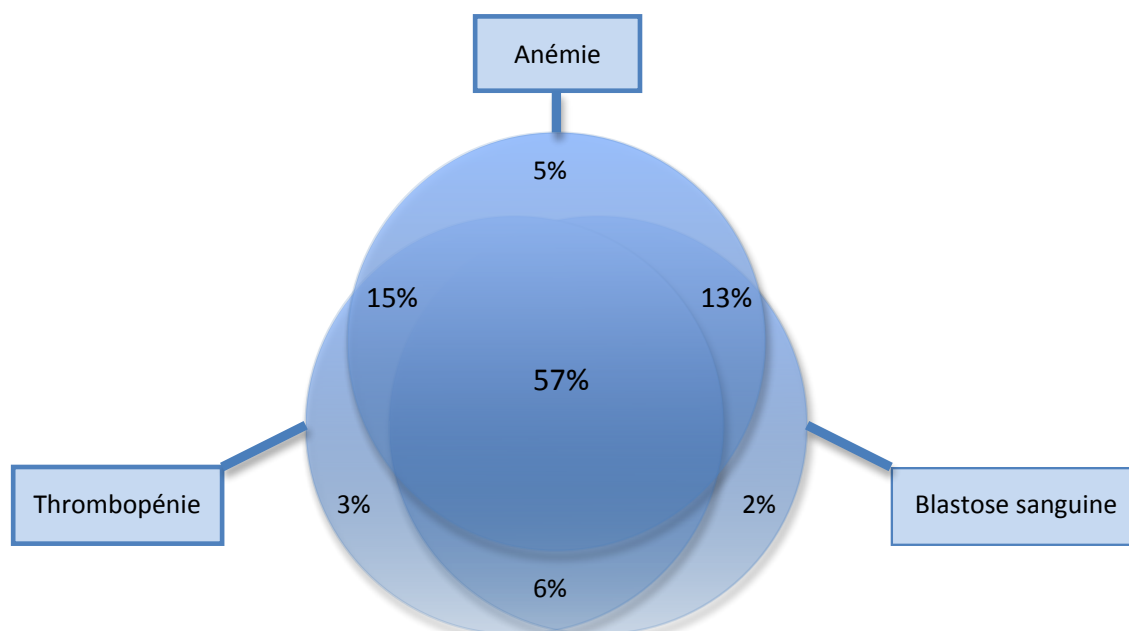


Illustration 15 : Répartition des patients selon les trois paramètres sanguins les plus retrouvés dans l'étude

L'anémie est le signe le plus fréquemment retrouvé (90%) ; il s'agit d'une anémie normochrome, normocytaire. Seulement 7 patients ne présentaient pas d'anémie. La tendance arégénérative a été évaluée par la moyenne des réticulocytes sur seulement 29 patients. 25 patients avaient une réticulocytose inférieure à 80 G/L.

La thrombopénie est aussi très fréquente (81%). Deux patients présentaient une thrombocytose (un patient avec une délétion 5q isolée et une blastose médullaire à 20% et un patient avec une délétion 7q et un antécédent de chimiothérapie).

La neutropénie est fréquente même s'il s'agit de la cytopénie la moins rencontrée (71%). La valeur des leucocytes totaux varie surtout selon l'infiltration blastique périphérique. En effet, il y a des formes leucopéniques (30 patients avec moins de 4 G/L) et des formes hyperleucocytaires (25 patients avec plus de 10 G/L dont 5 dépassent 80 G/L).

Une blastose sanguine (> 1%) a été retrouvée pour 78% des patients. Le décompte des blastes mais aussi leur aspect sont importants dans l'orientation diagnostique.

4.2 Blastose médullaire

Dans la moelle osseuse, le décompte des blastes est un élément essentiel du diagnostic. Or, pour quatre cas, le laboratoire n'a pas pu avoir de prélèvement médullaire ; mais la blastose circulante était supérieure à 20%. Le critère OMS est de plus de 20% de blastes indifféremment dans le sang ou la moelle.

Dans deux cas, la blastose circulante et médullaire n'atteint pas les 20%, mais les antécédents de chimiothérapie suffisent à les classer dans les *néoplasies myéloïdes associées aux thérapies*. Enfin pour deux autres cas, le décompte de la blastose médullaire a du être évaluée en écartant du compte les précurseurs érythrocytaires, les cellules lymphoïdes et les plasmocytes. L'illustration ci-dessous précise la répartition des patients en fonction des niveaux de blastose médullaire.

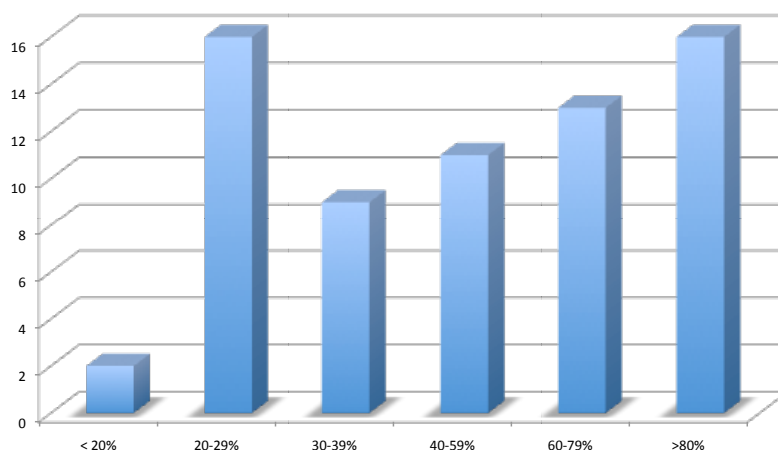


Illustration 16 : Nombre de cas de l'étude en fonction du pourcentage de blastes médullaires

4.3 Evaluation des examens réalisés

Comme nous avons pu le voir précédemment, il est nécessaire de réaliser divers examens biologiques pour diagnostiquer et classer une leucémie aiguë myéloïde. Afin de commenter et de comparer nos résultats aux exigences des référentiels, un état des lieux sur la fréquence de réalisation de ces examens est illustré par la figure ci-dessous.

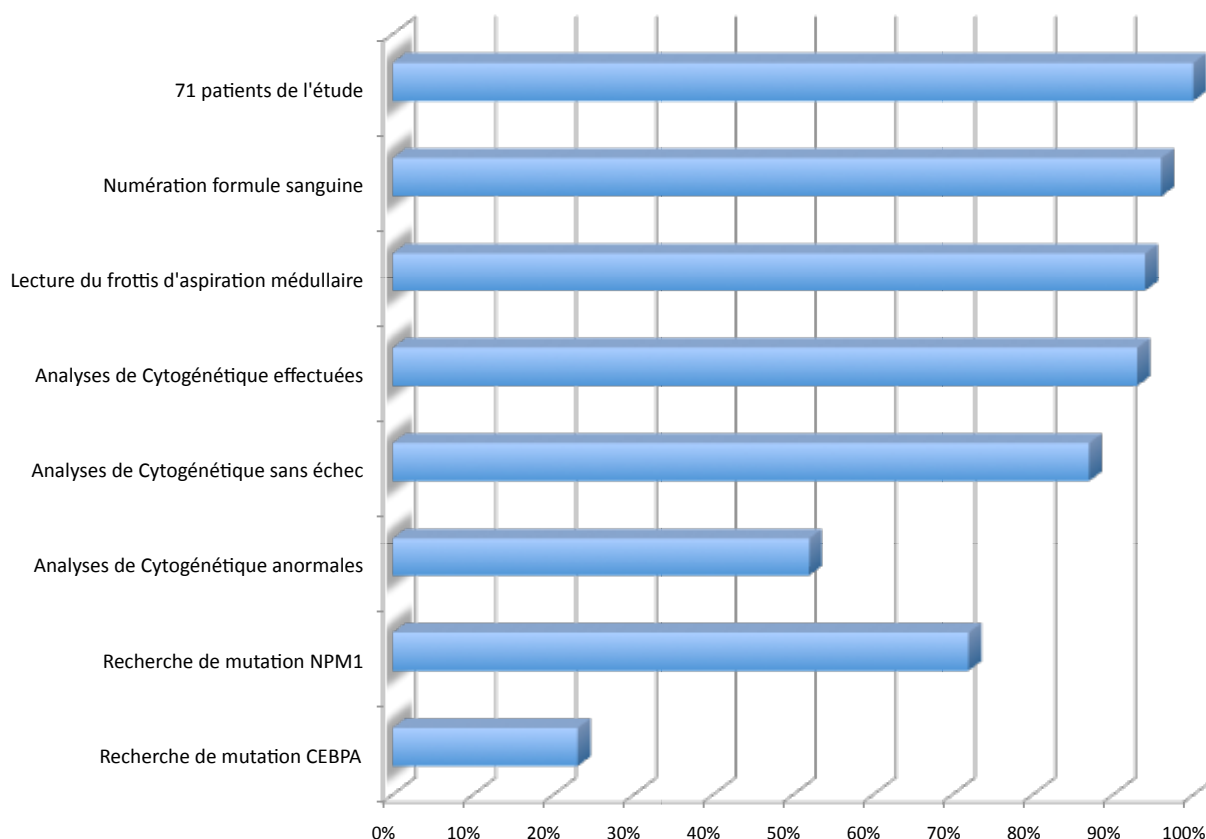


Illustration 17 : Fréquence de réalisation des principaux examens utiles au diagnostic des LAM dans le cadre notre étude

On remarque des écarts rares mais majeurs qui sont l'absence de NFS et de myélogramme (cas nécessairement distincts). Pour ces quelques patients, l'établissement du diagnostic n'a pas suivi, de manière évidente, les recommandations des référentiels. D'ailleurs, aucun classement n'a été rendu pour les patients sans myélogramme. Les cas sans myélogramme mais avec la NFS concernaient des patients très dégradés chez lesquels cet examen semblait injustifié. Les cas sans NFS concernaient des patients extérieurs pour lesquels l'envoi du frottis médullaire était isolé.

Le compte-rendu et les interprétations des cas concernés pourraient être annotés de grandes réserves en rappelant l'importance de ces examens ; ceci dans le cadre d'une non-conformité. Face à l'urgence et l'importance de la demande, un refus d'exécution de l'examen n'est cependant pas envisageable. Au final, toutes les situations doivent être préalablement anticipées et intégrées dans la documentation qualité du laboratoire.

Les examens de cytogénétique sont très fréquemment réalisés (93% des cas) mais le caractère systématique du caryotype médullaire et de la FISH MLL n'est pas encore atteint. Les cas d'échecs de la cytogénétique relevés dans notre étude aboutissent finalement sur la mise en évidence de transcrite PML/RARA (2 cas), dans un contexte de *LA promyélocytaire* et de la mise en évidence de la mutation NPM1 (2 cas).

Cependant, il existe une « conduite à tenir » en cas d'échec du caryotype médullaire mais basée sur la classification FAB (donc sur l'aspect morphologique) : recherche de la t(15;17) si suspicion de LAM3 et recherche de t(8;21), inv(16), MLL, Cen7 et 5q31. Une nouvelle démarche actualisée et conforme aux référentiels est à l'étude.

En biologie moléculaire, les défauts de recherche de NPM1 et FLT3 sont le plus souvent liés à une quantité de cellules insuffisantes. La recherche de mutation CEBPA n'est pas réalisée de manière systématique, ce qui est normal car il est recommandé de ne l'effectuer qu'en présence d'un caryotype normal. En ce qui concerne les patients pour lesquels ces recherches de mutations n'ont pas été effectuées, de nombreux cas auraient été classés différemment en cas de positivité de l'examen (4% pour la mutation NPM1 et 20% pour la mutation CEBPA).

De nombreux cas particuliers existent pour les sujets susceptibles d'intégrer un protocole. Dans ce contexte, des résultats de cytogénétique et de biologie moléculaire particuliers sont à effectuer dans des délais souvent limités (5 jours). L'urgence de ces examens doit primer sur la prise en charge diagnostique classique définie par le laboratoire.

4.4 Evaluation des diagnostics initiaux (OMS 2001)

Trois types de diagnostics ont été rendus : selon la classification FAB seule (18%), selon la classification OMS seule (11%) et selon les deux (63%). Cinq cas n'ont pas été classés. Pour ces cas sans classement, on retrouve comme explication l'absence de myélogramme (3 cas) et un renvoi

aux résultats des examens complémentaires à venir (2 cas). Après l'étude du dossier de ces patients, le diagnostic initial rendu est évalué. Ainsi nous allons analyser les discordances relevées.

Pour l'étude de ces discordances, seuls les diagnostics faits selon la classification OMS sont évalués, soit 53 dossiers. Selon les critères 2001 de la classification OMS, 42 diagnostics sont considérés comme validés. 1 cas est non-évaluable de part l'absence de donnée cytogénétique. Il y a donc 10 cas où une erreur d'interprétation a été commise.

Pour 6 patients, les antécédents de chimiothérapie n'ont pas été pris en compte et un classement en *LAM liée au traitement* aurait dû primer sur les autres critères présents. Pour 3 patients, les dysplasies myéloïdes significatives n'ont pas été prises en compte pour un classement dans la *LAM avec dysplasie multilignée* (à la place d'une *LAM, NOS*). Pour le dernier cas discordant, il s'agit d'un classement en *LAM 1 (FAB) /LAM sans maturation* (OMS 2001) alors qu'il s'agissait d'une *LAM avec t(8;21)(q22;22) ; RUNX1-RUNX1T1*.

4.5 Répartition des LAM selon les classifications OMS 2001 et 2008 ; différences de classements

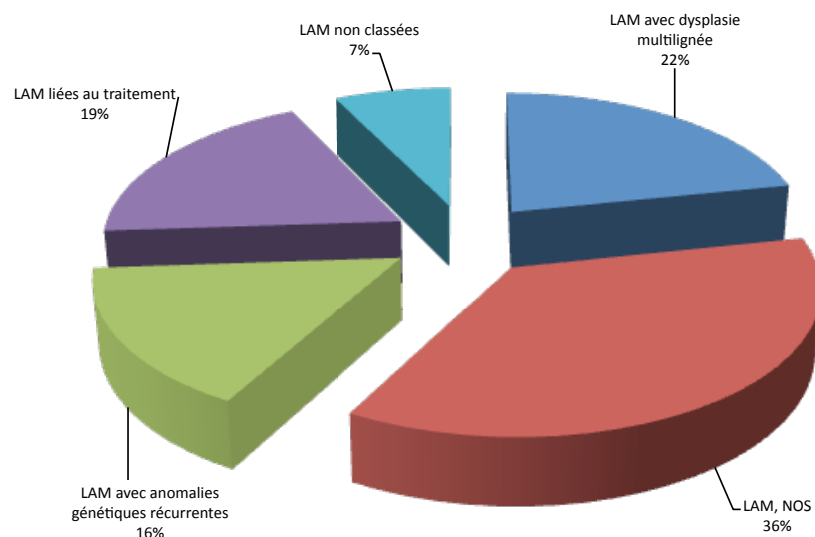


Illustration 18 : Répartition des LAM selon la classification OMS 2001

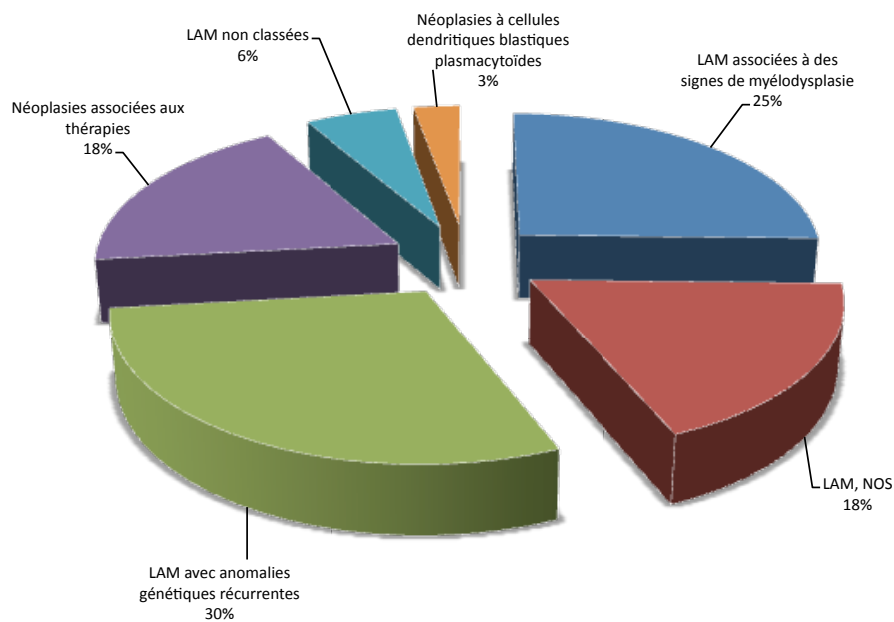


Illustration 19 : Répartition des LAM selon la classification OMS 2008

Le passage de la classification OMS 2001 à 2008 entraîne quelques différences diagnostiques. Pour les changements majeurs (13 cas sur 71) Il s'agit de trois modifications principales :

- L'élargissement de critères diagnostiques de la *LAM associée à des signes de myélodysplasie*
- La création de la nouvelle entité « *LAM avec mutation NPM1* »
- L'individualisation dans les néoplasies apparentées aux LAM de la « *néoplasie à cellules dendritiques plasmacytoïdes blastiques* »

Cinq cas de LAM, NOS (ou LAM, non spécifiée par ailleurs) sont nouvellement reclassés en *LAM associée à des signes de myélodysplasie* par la prise en compte des antécédents de syndrome myélodysplasique (2 cas) et de la cytogénétique (3 cas). De plus, il y a un changement de dénomination de cette entité anciennement *LAM avec dysplasie multilignée*.

Huit cas sont nouvellement intégrés dans la nouvelle entité *LAM avec mutation NPM1* : sept étaient classés dans les *LAM, NOS* et un cas était non classé par échec de la cytogénétique.

Sur l'année 2008, deux *lymphomes blastiques à cellule NK* ont été diagnostiqués. Depuis la dernière classification, ils sont intégrés dans les néoplasies apparentées aux LAM comme *néoplasie à cellules dendritiques plasmacytoïdes blastiques* (ou leucémie aiguë CD4/CD56+).

Sans modifier son classement, un cas de LAM 11q23 (anomalie de MLL) est dénommé *LAM avec translocation t(9;11)(p22;q23) ; MLLT3-MLL* selon la dernière classification.

Les *LAM liées aux traitements*, quelquefois appelées à tort secondaires, doivent être intitulées, selon la classification OMS 2008, *néoplasies myéloïdes liées aux thérapies*. Elles regroupent non seulement les leucémies aiguës myéloïdes mais aussi les syndromes myélodysplasiques et les néoplasies « frontières » survenant comme une complication d'une chimiothérapie cytotoxique ou d'une radiothérapie.

En ce qui concerne les nouvelles entités avec mutation NPM1 et CEBPA, leur recherche n'a pas été systématique en 2008 et la recherche de la mutation CEBPA était en cours de mise en place. Il est normal que leur recherche soit plutôt effectuée en présence d'un caryotype normal (recommandation RuBIH). Dans notre étude, sur les 11 patients NPM1 positifs, 10 avaient une cytogénétique normale. En pratique, dans le cadre de la classification OMS 2008, il n'est pas indispensable de rechercher ces mutations lorsqu'un diagnostic de *néoplasies myéloïdes associées aux thérapies* ou de *LAM associées à des signes de myélodysplasie* est établi. Cependant, sur les 71 patients de l'étude, pour 20 d'entre-eux la recherche de mutation NPM1 n'a pas été faite et 3 résultats positifs de NPM1 auraient eu une incidence sur le diagnostic. En ce qui concerne la recherche de mutation CEBPA, il y a 55 patients pour lesquels la recherche n'a pas été faite ou est encore en attente. Pour 14 de ces dossiers, sa présence aurait influé le classement rendu.

Pour 5 cas, aucun classement n'avait été rendu dans le diagnostic initial. En ce qui concerne 3 d'entre-eux, la cause était l'absence de myélogramme. La raison de la non-classification d'un autre cas était l'absence de prise en compte d'un antécédent de chimiothérapie par inhibiteurs de topoisomérases II. Enfin, pour le dernier cas, le biologiste n'avait seulement connaissance que de la cytologie et n'avait pas décidé de se prononcer sur ce seul élément diagnostique. Il est à souligner que l'aspect de leucémie aiguë myéloïde, même sans classement, avait été précisé pour ces 5 patients.

5 DISCUSSION

Cette étude a permis de soulever de nombreuses interrogations sur la méthode de classification au laboratoire d'une leucémie aiguë myéloïde. Des propositions en vue d'une amélioration du rendu des résultats sont évoquées.

Comme vu précédemment, le préalable à la classification OMS 2008 est l'accès aux informations thérapeutiques et aux antécédents des patients. Un dialogue clinico-biologique est d'emblée incontournable. Les renseignements cliniques et thérapeutiques de la part des services cliniques doivent garder toute leur importance dans la prescription médicale. L'accès direct au dossier médical par les biologistes est une aide précieuse. Des erreurs de classification ont été commises par la non-prise en considération ou l'absence d'information au moment des interprétations biologiques.

Comme son nom l'indique, la liste des principaux agents cytotoxiques (*cf Tableau XIX*) cités dans l'ouvrage de l'OMS n'est pas exhaustive. De plus, la notion de dose et de durée d'exposition n'est pas précisée. A la question : « Y-a-t-il des antécédents de chimiothérapie ou de radiothérapie compatibles avec l'hémopathie suspectée ? », l'avis du clinicien et du biologiste est à prendre en compte ; il ne s'agit pas d'une donnée clairement objective. Il est donc important d'étudier au cas par cas l'éventuelle exposition des patients ; mais cette question ne peut être maîtrisée complètement.

Nous avons eu le cas d'un patient traité par méthotrexate pour une affection rhumatologique. Le méthotrexate est un antinéoplasique (classe pharmacodynamique ATC). Il agit comme un antimétabolite. Il a été démontré qu'il provoque des altérations chromosomiques mais leur signification clinique reste incertaine. Les études de cancérogénèse chez l'animal n'ont pas permis de tirer des conclusions [16]. De ce fait, nous n'avons pas considéré qu'il était la cause de l'hémopathie survenue. On voit que cette seule question « d'exposition antérieure » n'est pas si simple, le plus souvent inconnue du biologiste qui doit rendre en urgence le diagnostic de leucémie aiguë. Nous avons ici un premier argument contre un classement OMS dès le compte-rendu initial du myélogramme et de la cytométrie en flux.

La place de la cytogénétique dans la stratégie diagnostique est grandissante. Elle est effectuée de façon systématique sur un prélèvement de moelle osseuse. Pour un caryotype standard, un minimum de 20 mitoses est exigé pour établir la significativité de l'examen. En cas

d'échec, l'examen peut être renouvelé ; la méthode par hybridation *in situ* est aussi une alternative. Les modalités de réalisation de ces examens doivent être formalisées notamment en cas d'échec du caryotype. Le clinicien doit être prévenu tout de suite de l'échec et un dialogue biologiste/clinicien doit s'engager sur les modalités d'un nouveau prélèvement.

Nous avons vu l'importance de la présence des mutations NPM1 et CEBPA pour classer une LAM. Elles ne sont cependant pas systématiquement recherchées au laboratoire du fait de leur association fréquente aux caryotypes normaux. Ces examens sont plus ou moins déportés dans des cadres protocolaires, mais en pratique la difficulté à retrouver certains résultats de mutation de CEBPA justifierait d'envisager la réalisation sur site de cet examen devenu incontournable. Sans être systématique, la recherche des mutations NPM1 et CEBPA pourrait être effectuée en l'absence de classement en *néoplasie myéloïde associée aux thérapies*, *LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes* ou *LAM associée des signes de myélodysplasie*.

Par rapport à l'édition 2001, la classification OMS 2008 présente des critères plus larges de signes de myélodysplasie pour un classement dans la *LAM associée des signes de myélodysplasie*. Outre le critère cytologique, les critères cytogénétiques et la notion d'antécédent de syndrome myélodysplasique et de néoplasie « mixte » élargissent la possibilité de classement dans cette entité. Malgré un aspect objectif dans la définition de la dysplasie significative (au moins deux lignées myéloïdes dysplasiques sur au moins la moitié des éléments de la lignée), il y a tout de même une subjectivité dans l'évaluation de ces dysplasies myéloïdes. Quelques erreurs ou inexactitudes ont été commises lors des descriptions cytologiques. Au préalable, un minimum d'éléments de chaque lignée doit être présent avant l'évaluation des dysplasies. En ce qui concerne la lignée mégacaryocytaire, un minimum de 30 mégacaryocytes observés est exigé par l'OMS 2008. Mais aucun minimum n'est précisé pour les autres lignées myéloïdes. Peut-on réellement apprécier la dysplasie d'une lignée si elle ne représentent pas plus de 5% des cellules observées ? Le laboratoire pourrait établir une démarche commune pour tendre vers une évaluation des dysplasies des plus objectives et reproductibles entre cytologistes. Le caractère non-évaluable des dysplasies serait aussi un critère intéressant à définir. La revue systématique des classements par un second biologiste est une option à étudier.

Afin d'être conforme aux exigences de la norme ISO EN NF 15189, il faut établir la liste des examens biologiques ainsi que leur mise en œuvre (dont les délais compatibles avec l'état de l'art), utiles au diagnostic d'une LAM. Mais l'application pratique de ces exigences se confronte à des difficultés ; il n'est pas possible d'établir une seule et même interprétation des examens

biologiques. Le caractère urgent de la réalisation des examens utiles est incompatible avec les examens de cytogénétique et de biologie moléculaire. Les résultats provisoires sont maintenant interdits et seule la cytologie, voire la cytochimie et la cytométrie en flux (cas des laboratoires équipés) peuvent être rendus dans la journée. De ce fait, le compte-rendu et l'interprétation sont incomplets pour classer une LAM selon les critères OMS 2008. Ce n'est que dans un deuxième temps, dans le cadre d'un autre compte-rendu, que l'interprétation et le classement définitif de la LAM sera établi.

Malgré un rendu des résultats à distance, l'intérêt du patient est préservé car, dans l'urgence, l'important est de répondre à ces questions : « S'agit-il d'une leucémie aiguë ? » et si oui, « S'agit-il d'une LAM de type 3 (FAB) ou LAM promyélocytaire ? ». Avec peu d'éléments à sa disposition, parfois seulement la numération sanguine et un frottis de moelle osseuse, le biologiste doit faire une interprétation utile au clinicien, basé sur l'aspect des blastes et d'éventuelles dysplasies, en se remettant aux interprétations des autres examens en cours pour se prononcer sur l'entité exacte en présence.

A un niveau moindre, un second degré de caractère urgent est représenté par la nécessité d'avoir connaissance du caryotype avant l'inclusion protocolaire du patient. Le délai de rendu du caryotype n'a pas été étudié ici.

Dans notre étude, nous avons pu remarquer l'importance de la numération sanguine. Les cytopénies périphériques et la présence d'une blastose périphérique, discrètes ou majeures, sont des signes forts dans l'approche diagnostique d'une LAM. La numération sanguine et l'étude du frottis sanguin sont des éléments incontournables, préalables à tout autre examen. Un biologiste ne peut interpréter de façon isolée un frottis de moelle osseuse sans tenir compte de la numération sanguine. Il serait utile de formaliser le caractère indispensable de la numération sanguine ainsi que l'étude du frottis sanguin.

La classification OMS 2008, accompagnée de la classification FAB, sont les deux seuls classements des LAM recommandés par le RuBIH et la SFH. De ce fait, les patients sont intégrés dans des groupes « homogènes » de patients avec des perspectives pronostiques et thérapeutiques similaires. Un classement adéquat est donc le point de départ d'une thérapeutique de qualité. Un consensus international sur les définitions et la terminologie est donc essentiel pour la pratique clinique mais aussi pour des études épidémiologiques éventuelles. Ainsi, lors du classement d'une

LAM, l'entité OMS 2008 doit être clairement énoncée. Les codes internationaux ICD-O XXXX-X pourraient être utilisés pour lever toute ambiguïté.

Au total, on peut proposer un organigramme modifié et amélioré qui pourrait permettre une meilleure standardisation et une amélioration du respect des référentiels.

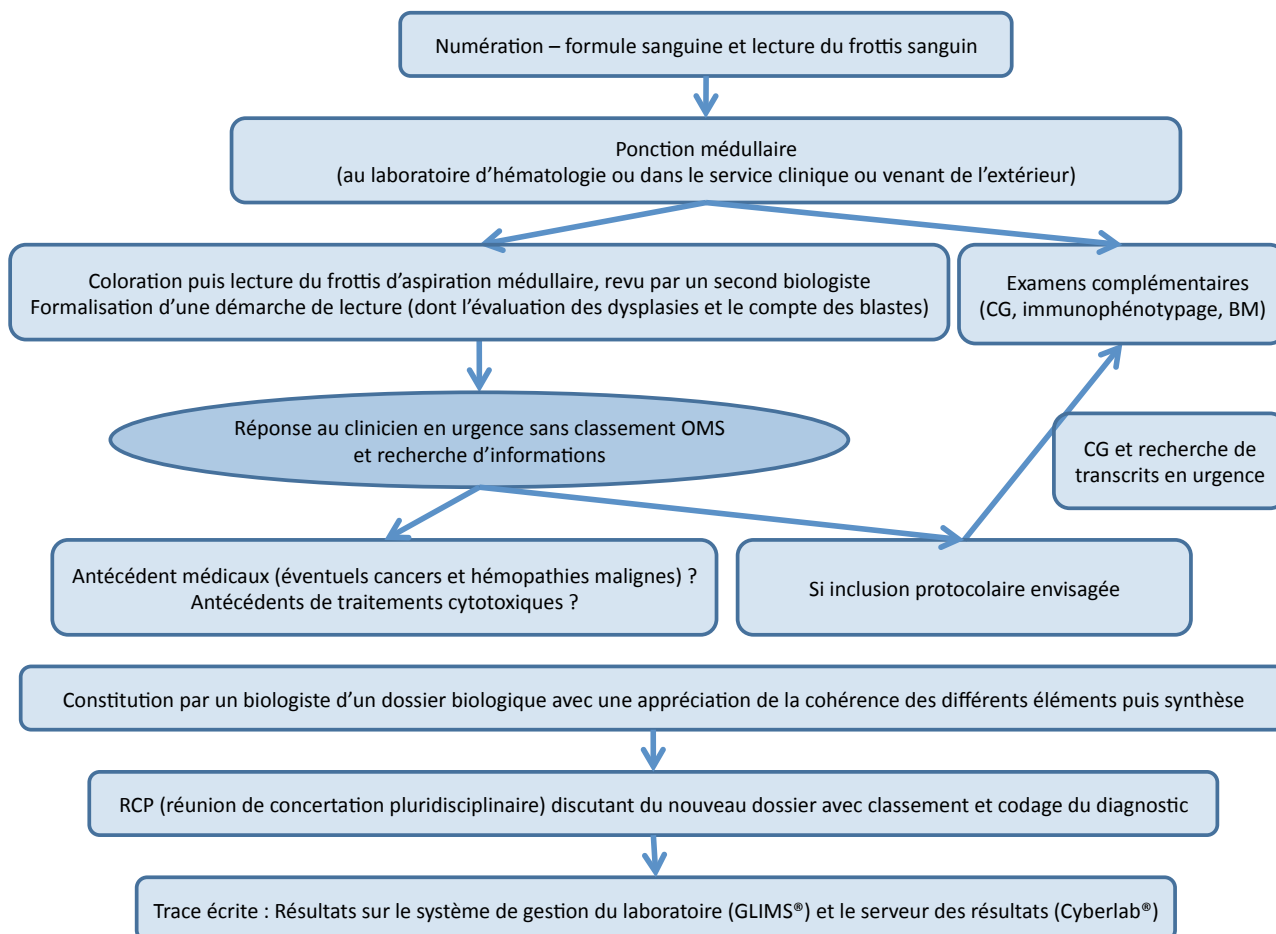


Illustration 20 : Proposition d'une nouvelle démarche diagnostique des LAM

CONCLUSION

Le laboratoire d'hématologie est un acteur clé dans la prise des décisions médicales. En effet, les examens biologiques au laboratoire sont effectués à tous les stades d'une pathologie ; lors d'un dépistage, du diagnostic, de l'évaluation du pronostic, de la prise en charge thérapeutique, du suivi médical et thérapeutique, d'éventuelles rechutes. Ce travail s'est basé sur le diagnostic des hémopathies malignes myéloïdes, point de départ avant l'établissement du pronostic et de la prise en charge médicale.

Des recommandations validées par des sociétés savantes constituent une base de référence et de travail pour le biologiste. Afin de constituer des référentiels internationaux, l'Organisation Mondiale de la Santé présente l'ambition d'établir des consensus sur les maladies en établissant une classification internationale. Dans le cas des néoplasies hématopoïétiques, elle a confié à l'Agence internationale de recherche sur le cancer (IARC) l'objectif d'établir un référentiel des tumeurs hématopoïétiques et des tissus lymphoïdes. L'intérêt de cette classification « consensus » est l'optimisation ainsi que l'homogénéisation de la prise en charge des patients. En France, au niveau réglementaire, il convient que les références sur lesquelles reposent les interprétations des examens biologiques soient formulées par écrit (sur le compte-rendu lui-même ou tout autre document du système documentaire).

Malgré son exhaustivité, l'ouvrage édité présentant cette classification OMS n'est pas toujours adapté à la pratique quotidienne. A la manière anglo-saxonne, l'anatomopathologie et la biologie médicale sont des disciplines entremêlées ; *de facto*, l'utilisation de ce référentiel par des biologistes français n'est pas aisée. En effet, certains critères diagnostiques, de nombreuses descriptions histologiques, les examens histochimiques ou l'apport de la biopsie ostéo-médullaire ne sont pas sous le contrôle du biologiste et ne peuvent avoir qu'une valeur d'orientation dans la démarche diagnostique au laboratoire d'hématologie. La multidisciplinarité des démarches diagnostiques demande une implication importante de tous les professionnels de santé concernés.

La première partie de ce travail a permis de présenter les néoplasies myéloïdes de manière fidèle au texte original pour justement garder le contenu des consensus acquis. L'objectif était de traduire, illustrer et synthétiser chaque entité ou groupe d'entités chapitre de cette référence, en

se limitant aux données « biologiques ». La comparaison avec des référentiels français (Société Française d'Hématologie et les Guides de Juste Prescription du RuBIH) a permis de discuter de la pertinence des critères diagnostiques proposés.

Dans la seconde partie, l'étude rétrospective sur les cas de leucémies aiguës myéloïdes diagnostiquées en 2008 au CHU de Limoges a mis en évidence des difficultés dans l'utilisation pratique du référentiel OMS. L'impact de la nouvelle classification (2008) par rapport à l'ancienne (2001) a également été étudié. Dans un but d'amélioration continue de l'interprétation des résultats, cette étude démontre l'importance de la formalisation dans l'établissement d'un diagnostic et d'un classement. Cette démarche est en accord avec les exigences de la norme ISO EN NF 15189, obligatoire à partir du 1^{er} novembre 2016.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., Thiele J., Vardiman J.W. (Eds): WHO Classification of tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC: Lyon 2008

[2] Gérard Sébahoun. Hématologie clinique et biologique, 2^{ème} édition, Arnette Groupe Liaison SA, ISBN: 2-7184-1053-1, Cytochimie 528-529

[3] Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, Bain BJ, Baumann I, Brunning R, Cazzola M, Fenaux P, Germing U, Hellström-Lindberg E, Jinnai I, Manabe A, Matsuda A, Niemeyer CM, Sanz G, Tomonaga M, Vallespi T, and Yoshimi A. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome : International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the définition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. Haematologica 2008; 93:1712-1717. doi: 10.3321/haematol.13405

[4] Ogata K, Della Porta MG, Malcovatti L, Picone C, Yokose N, Matsuda A, Yamashita T, Tamura H, Tsukada J, and Dan K. Diagnostic utility of flow cytometry in low-grade myelodysplastic syndromes : a prospective validation study. Haematologica 2009;94:1066-1074.
doi:10.3324/haematol.2009.008532

[5] Référentiels 2009, Société Française d'hématologie,
<http://sfh.hematologie.net/pages/index.php?page=24&type=evenements&id=125>

[6] Évaluation de la structuration et organisation en réseaux régionaux des activités de biologie innovantes en onco-hématologie ou Réseau de Biologie Innovatrice en onco-Hématologie : RuBIH, collection Rapports & synthèses, INCa, Boulogne-Billancourt, décembre 2010.

[7] Spécial référentiels, Société Française d'hématologie, 16 (supplément 4), 81-101, septembre 2010

- [8] Bohm J, Schaefer HE. Chronic neutrophilic leukaemia : 14 new cases of an uncommon myeloproliferative disease. *J Clin Pathol* 2002;55(11) : 862-4.
- [9] Reilly JT. Chronic neutrophilic leukaemia : a distinct clinical entity? *Br J Haematol* 2002 ;116(1) :10-8.
- [10] Takamatsu Y, Kondo S, Inoue M, Tamura K. Chronic neutrophilic leukaemia with dysplastic features mimicking myelodysplastic syndromes. *Int J Hematol* 1996 ;63(1) :65-9.
- [11] Elliot MA, Dewald GW, Tefferi A, Hanson CA. Chronic neutrophilic leukaemia (CNL) : a clinical, pathologic and cytogenetic study. *Leukaemia* 2001 ; 15(1) :35-40
- [12] Lecture critique de l'hémogramme : valeurs seuils à reconnaître comme probablement pathologiques et principales variations non pathologiques, ANAES, Septembre 1997, http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_271914/lecture-critique-de-l-hemogramme-valeurs-seuils-a-reconnaitre-comme-probablement-pathologiques-et-principales-variations-non-pathologiques
- [13] Cassinat B, Laguillier C, Gardin C, de Beco V, Burcheri S, Fenaux P et al.: Classification of myeloproliferative disorders in the JAK2 era: is there a role for red cell mass? *Leukemia*. 2007.
- [14] P.Dieusert, le Guide pratique des analyses médicales, Edition Maloine, 2009.
- [15] Kroschinsky FP, Schäkel U, Fischer R, Mohr B, Oelschlaegel U, Repp R, Schaich M, Soucek S, Baretton G, Ehninger G, and Thiede C on behalf of the DSIL (Deutsche Studieinitiative Leukämie) Study Group. Cup-like acute myeloid leukemia : new disease or artificial phenomenon ? *Haematologica* 2008 Feb; 93(2) :283-286. DOI : 10.3324/haematol.11669
- [16] Dictionnaire Vidal 2011, Novatrex®, méthotrexate, pages 1573-1574

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|----|
| REMERCIEMENTS | 4 |
| SOMMAIRE..... | 6 |
| ABREVIATIONS | 9 |
| INTRODUCTION..... | 12 |
| PREMIERE PARTIE : CRITERES DIAGNOSTIQUES DE LA CLASSIFICATION OMS 2008 ET REFERENTIELS DES HEMOPATHIES MALIGNES MYELOÏDES..... | 14 |
| 1 PRESENTATION DES HEMOPATHIES MALIGNES MYELOÏDES SELON LA CLASSIFICATION OMS 2008 | 15 |
| 1.1 Introduction..... | 15 |
| 1.2 Pré-requis de la classification des néoplasies myéloïdes selon les critères OMS 2008 | 18 |
| 1.2.1 Introduction | 18 |
| 1.2.2 Morphologie..... | 19 |
| 1.2.2.1 Sang périphérique..... | 19 |
| 1.2.2.2 Moelle osseuse | 19 |
| 1.2.2.3 Blastes..... | 20 |
| 1.2.3 Cytochimie | 22 |
| 1.2.4 Immunophénotypage..... | 23 |
| 1.2.5 Génétique | 25 |
| 1.3 Référentiels pour l'aide au diagnostic..... | 26 |
| 2 NÉOPLASIES MYÉLOPROLIFÉRATIVES | 28 |
| 2.1 Introduction..... | 28 |
| 2.1.1 Définition | 28 |
| 2.1.2 Principaux changements par rapport à l'édition 2001..... | 30 |
| 2.2 Leucémie myéloïde chronique | 31 |
| 2.2.1 Référentiels..... | 33 |
| 2.2.1.1 Recommandations SFH 2009..... | 33 |
| 2.2.1.2 RUBIH..... | 33 |
| 2.2.2 Conclusion et synthèse | 34 |
| 2.3 Leucémie neutrophile chronique | 35 |
| 2.4 Polyglobulie primitive..... | 36 |

| | | |
|---------|--|----|
| 2.4.1 | Référentiels..... | 39 |
| 2.4.1.1 | Recommandations SFH 2009..... | 39 |
| 2.4.1.2 | RUBIH..... | 41 |
| 2.4.2 | Conclusion et synthèse..... | 42 |
| 2.5 | Myélofibrose primitive..... | 44 |
| 2.5.1 | Référentiels..... | 47 |
| 2.5.1.1 | Recommandations SFH 2009..... | 47 |
| 2.5.1.2 | RUBIH..... | 49 |
| 2.5.2 | Conclusion et synthèse..... | 49 |
| 2.6 | Thrombocytémie essentielle..... | 51 |
| 2.6.1 | Référentiels..... | 53 |
| 2.6.1.1 | RUBIH..... | 53 |
| 2.6.2 | Conclusion et synthèse..... | 53 |
| 2.7 | Leucémie éosinophile chronique, non spécifiée par ailleurs..... | 56 |
| 2.7.1 | Conclusion et synthèse..... | 57 |
| 2.8 | Mastocytoses..... | 59 |
| 2.8.1 | Conclusion et synthèse..... | 61 |
| 2.9 | Néoplasies myéloprolifératives inclassables..... | 63 |
| 2.10 | Démarche diagnostique devant une suspicion de néoplasie myéloproliférative..... | 65 |
| 3 | NEOPLASIES MYELOÏDES ET LYMPHOÏDES AVEC HYPEREOSINOPHILIE ET REARRANGEMENT DE PDGFRA, PDGFRB ET FGFR1..... | 68 |
| 3.1 | Introduction..... | 68 |
| 3.2 | Néoplasies myéloïdes et lymphoïdes associées au réarrangement PDGFRA..... | 69 |
| 3.3 | Néoplasies myéloïdes associées au réarrangement PDGFRB..... | 71 |
| 3.4 | Néoplasies myéloïdes et lymphoïdes associées aux anomalies de FGFR1..... | 74 |
| 3.5 | Conclusion et synthèse..... | 77 |
| 4 | NEOPLASIES MYELOYDYSPLASIQUES MYELOPROLIFERATIVES..... | 78 |
| 4.1 | Introduction..... | 78 |
| 4.1.1 | Principaux changements par rapport à l'édition 2001..... | 79 |
| 4.2 | Leucémie myélomonocytaire chronique..... | 79 |
| 4.3 | Leucémie myéloïde chronique atypique..... | 82 |
| 4.4 | Leucémie myélomonocytaire juvénile..... | 84 |
| 4.5 | Néoplasie myélodysplasique myéloproliférative inclassable..... | 88 |
| 4.6 | Référentiels..... | 91 |
| 4.6.1 | RUBIH..... | 91 |

| | | |
|---------|--|-----|
| 4.7 | Conclusion et synthèse..... | 91 |
| 5 | SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES | 93 |
| 5.1 | Introduction..... | 93 |
| 5.1.1 | Définition | 93 |
| 5.1.2 | Critères de classification | 94 |
| 5.1.3 | Diagnostic différentiel d'une dysmyélopoïèse | 95 |
| 5.1.4 | Le syndrome myéلودysplasique avec myélofibrose | 95 |
| 5.1.5 | Cytopénies idiopathiques de signification indéterminée..... | 96 |
| 5.1.6 | Cytogénétique..... | 96 |
| 5.1.7 | Étude des critères de dysmyélopoïèse..... | 98 |
| 5.1.7.1 | Signes de dysérythropoïèse | 99 |
| 5.1.7.2 | Signes de dysgranulopoïèse..... | 101 |
| 5.1.7.3 | Signes de dysmégacaryopoïèse | 103 |
| 5.1.7.4 | Blastes (Hors OMS) | 105 |
| 5.2 | Cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée..... | 107 |
| 5.2.1 | Anémie réfractaire | 107 |
| 5.2.2 | Neutropénie réfractaire | 108 |
| 5.2.3 | Thrombopénie réfractaire..... | 108 |
| 5.3 | Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne..... | 108 |
| 5.4 | Cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée..... | 109 |
| 5.5 | Anémie réfractaire avec excès de blastes | 110 |
| 5.6 | Syndrome myéلودysplasique avec délétion 5q isolée..... | 111 |
| 5.7 | Syndrome myéلودysplasique inclassable | 112 |
| 5.8 | Syndromes myéلودysplasiques infantiles..... | 113 |
| 5.8.1 | Cytopénie réfractaire de l'enfant..... | 113 |
| 5.9 | Référentiels | 115 |
| 5.9.1 | Recommandations SFH 2009 | 115 |
| 5.9.2 | RUBIH..... | 116 |
| 5.10 | Démarche diagnostique d'un syndrome myéلودysplasique | 117 |
| 6 | LEUCEMIES AIGÜES MYELOÏDES ET NEOPLASIES APPARENTEES | 120 |
| 6.1 | Introduction..... | 120 |
| 6.2 | Principaux changements par rapport à l'édition 2001 | 121 |
| 6.3 | Leucémies aiguës myéloïdes avec anomalies génétiques récurrentes | 123 |
| 6.3.1 | Introduction | 123 |
| 6.3.2 | Leucémie aiguë myéloïde avec t(8;21)(q22;q22) ; RUNX1-RUNX1T1 | 124 |

| | | |
|---------|---|-----|
| 6.3.3 | Leucémie aiguë myéloïde avec inv(16)(p13.1q22) ; CBFβ-MYH11..... | 126 |
| 6.3.4 | Leucémie aiguë promyélocytaire avec t(15;17) (q22;q12) ; PML-RARA | 128 |
| 6.3.5 | Leucémie aiguë myéloïde avec t(9;11)(p22;q23) ; MLLT3-MLL..... | 130 |
| 6.3.6 | Leucémie aiguë myéloïde avec t(6;9)(p23;q34) ; DEK-NUP214 | 132 |
| 6.3.7 | Leucémie aiguë myéloïde avec inv(3)(q21;q26.2) ; RPN1-EVI1..... | 133 |
| 6.3.8 | Leucémie aiguë myéloïde avec t(1;22)(p13;q13) ; RBM15-MKL1 | 135 |
| 6.3.9 | Leucémies aiguës myéloïdes avec anomalies génétiques..... | 136 |
| 6.3.9.1 | Leucémie aiguë myéloïde avec mutation NPM1 | 136 |
| 6.3.9.2 | Leucémie aiguë myéloïde avec mutation CEBPA..... | 138 |
| 6.4 | Leucémie aiguë myéloïde associée à des signes de myélodysplasie..... | 139 |
| 6.5 | Néoplasies myéloïdes associées aux thérapies | 142 |
| 6.6 | Leucémies aiguës myéloïdes, non spécifiées par ailleurs..... | 145 |
| 6.6.1 | Introduction | 145 |
| 6.6.2 | Leucémie aiguë myéloïde peu différenciée | 147 |
| 6.6.3 | Leucémie aiguë myéloïde sans maturation..... | 148 |
| 6.6.4 | Leucémie aiguë myéloïde avec maturation | 150 |
| 6.6.5 | Leucémie aiguë myélomonocytaire | 151 |
| 6.6.6 | Leucémie aiguë monoblastique et monocytaire..... | 153 |
| 6.6.7 | Leucémie aiguë érythroblastique..... | 155 |
| 6.6.8 | Leucémie aiguë mégacaryoblastique | 157 |
| 6.6.9 | Leucémie aiguë basophile..... | 158 |
| 6.6.10 | Leucémie aiguë myéloïde avec myélofibrose | 159 |
| 6.7 | Sarcome myéloïde | 160 |
| 6.8 | Proliférations myéloïdes liées au syndrome de Down | 161 |
| 6.8.1 | Myélopoïèse anormale transitoire..... | 162 |
| 6.8.2 | Leucémies myéloïdes associées au syndrome de Down..... | 163 |
| 6.9 | Néoplasie à cellules dendritiques plasmacytoïdes blastiques..... | 165 |
| 6.10 | Référentiels | 167 |
| 6.10.1 | Recommandations SFH 2009 | 167 |
| 6.10.2 | RUBIH..... | 167 |
| 6.11 | Conclusion et synthèse..... | 168 |

DEUXIEME PARTIE : ETUDE RETROSPECTIVE DES CAS DE LEUCEMIES AIGUËS MYELOÏDES
DIAGNOSTIQUEES EN 2008 AU CHU DE LIMOGES..... 170

| | | |
|---|-------------------|-----|
| 1 | INTRODUCTION..... | 171 |
| 2 | MATERIELS..... | 173 |

| | | |
|-----|---|-----|
| 3 | METHODES..... | 175 |
| 4 | RESULTATS | 176 |
| 4.1 | Epidémiologie descriptive ; résultats des numérations formules sanguines | 176 |
| 4.2 | Blastose médullaire | 178 |
| 4.3 | Evaluation des examens réalisés..... | 179 |
| 4.4 | Evaluation des diagnostics initiaux (OMS 2001)..... | 180 |
| 4.5 | Répartition des LAM selon les classifications OMS 2001 et 2008 ; différences de classements | 181 |
| 5 | DISCUSSION | 184 |
| | CONCLUSION..... | 188 |
| | BIBLIOGRAPHIE | 190 |
| | TABLE DES MATIERES..... | 192 |
| | TABLE DES ILLUSTRATIONS | 197 |
| | TABLE DES TABLEAUX | 198 |
| | TABLE DES PHOTOS..... | 199 |

TABLE DES ILLUSTRATIONS

| | |
|--|-----|
| Illustration 1 : Démarche diagnostique de la leucémie myéloïde chronique | 34 |
| Illustration 2 : Démarche diagnostique de la polyglobulie de Vaquez..... | 43 |
| Illustration 3 : Démarche diagnostique de la myélofibrose primitive | 51 |
| Illustration 4 : Démarche diagnostique de la thrombocytémie essentielle | 55 |
| Illustration 5 : Démarche diagnostique de la leucémie éosinophile chronique | 58 |
| Illustration 6 : Démarche diagnostique de la mastocytose systémique | 62 |
| Illustration 7 : Démarche d'identification d'une mastocytose systémique "classique" | 63 |
| Illustration 8 : Démarche diagnostique devant une suspicion de néoplasie myéloproliférative..... | 67 |
| Illustration 9 : Démarche diagnostique des néoplasies myéloprolifératives hyperéosinophiliques | 77 |
| Illustration 10 : Démarche diagnostique d'une néoplasie myélodysplasique myéloproliférative..... | 92 |
| Illustration 11 : Blastes, promyélocytes, promyélocytes anormaux, d'après [3] | 106 |
| Illustration 12 : Démarche diagnostique d'un syndrome myélodysplasique..... | 117 |
| Illustration 13 : Démarche diagnostique d'une leucémie aiguë myéloïde..... | 169 |
| Illustration 14 : Démarche diagnostique en 2008 d'une LAM au laboratoire d'hématologie | 173 |
| Illustration 15 : Répartition des patients selon les trois paramètres sanguins les plus retrouvés dans l'étude..... | 177 |
| Illustration 16 : Nombre de cas de l'étude en fonction du pourcentage de blastes médullaires..... | 178 |
| Illustration 17 : Fréquence de réalisation des principaux examens utiles au diagnostic des LAM dans le cadre notre étude..... | 179 |
| Illustration 18 : Répartition des LAM selon la classification OMS 2001..... | 181 |
| Illustration 19 : Répartition des LAM selon la classification OMS 2008..... | 182 |
| Illustration 20 : Proposition d'une nouvelle démarche diagnostique des LAM | 187 |

TABLE DES TABLEAUX

| | |
|--|-----|
| Tableau I : Principales caractéristiques des hémopathies myéloïdes..... | 18 |
| Tableau II : Principales techniques cytochimiques utilisées au laboratoire d'hématologie | 24 |
| Tableau III : Critères de chacune des phases de la leucémie myéloïde chronique..... | 32 |
| Tableau IV : Critères diagnostiques de la leucémie myéloïde chronique d'après le Guide de Juste Prescription..... | 33 |
| Tableau V : Critères diagnostiques de la leucémie neutrophile chronique | 36 |
| Tableau VI : Valeurs de l'hémoglobine au 97,5 ^{ème} percentile [12] | 39 |
| Tableau VII : Critères diagnostiques de la polyglobulie primitive d'après le Guide de Juste Prescription..... | 41 |
| Tableau VIII : Critères diagnostiques de la myélofibrose primitive d'après le Guide de Juste Prescription..... | 49 |
| Tableau IX : Critères diagnostiques de la thrombocytémie essentielle d'après le Guide de Juste Prescription..... | 53 |
| Tableau X : Les différents types de mastocytoses | 60 |
| Tableau XI : Critères cliniques utiles au classement des mastocytoses systémiques | 61 |
| Tableau XII: Principales anomalies génétiques associées aux néoplasies myéloprolifératives | 66 |
| Tableau XIII: Rappel des données épidémiologiques des néoplasies myéloprolifératives | 66 |
| Tableau XIV : Taux d'hémoglobine foetale normal en fonction de l'âge [14] | 87 |
| Tableau XV : Critères diagnostiques des néoplasies myélodysplasiques myéloprolifératives | 91 |
| Tableau XVI : Principales anomalies cytogénétiques observées dans les syndromes myélodysplasiques..... | 98 |
| Tableau XVII : Signes de dysmyélopoïèse | 99 |
| Tableau XVIII : Critères diagnostiques d'un syndrome myélodysplasique d'après le Guide de Juste Prescription..... | 116 |
| Tableau XIX : Principaux agents cytotoxiques | 142 |
| Tableau XX : Démarche diagnostique d'une leucémie aiguë myéloïde d'après le Guide de Juste Prescription..... | 167 |

TABLE DES PHOTOS

| | |
|---|----|
| Photo 1 : LMC (Sg) : Basophilie et myélémie dans une LMC en phase chronique (obj.50) | 32 |
| Photo 2 : LMC (MO) : Hyperplasie granuleuse de la LMC en phase chronique (obj.50)..... | 32 |
| Photo 3 : LMC (Sg) : Blaste et polynucléaire basophile dans une LMC en phase blastique (obj.100) .. | 32 |
| Photo 4 : PV (MO) : Nombreux mégacaryocytes sur un frottis médullaire (obj.10) | 37 |
| Photo 5 : PV (MO) : Mégacaryocyte hyperlobé (obj.50)..... | 37 |
| Photo 6 : MFP (MO) : Dismégacaryopoïèse : mégacaryocytes en amas avec des noyaux atypiques (obj.50) | 45 |
| Photo 7 : MFP (MO) : Dismégacaryopoïèse (micromégacaryocytes) (obj.50) | 46 |
| Photo 8 : MFP (Sg) : Erythroblaste, hématie ponctuée et dacryocyte (obj.100) | 46 |
| Photo 9 : MFP (Sg) : Blaste indifférencié et dysérythropoïèse (érythroblastes à cytoplasmes feuilletés) (obj.50)..... | 46 |
| Photo 10 : MFP (MO) : Moelle osseuse hypercellulaire par endroit avec mégacaryocytes dystrophiques (obj.10)..... | 47 |
| Photo 11 : MFP (MO) : Blaste et micromégacaryocytes (obj.50)..... | 47 |
| Photo 12 : TE (MO) : Mégacaryocyte de grande taille à noyau hyperlobé (obj.10)..... | 52 |
| Photo 13 : Mastocytose systémique (MO) : Deux mastocytes atypiques, polynucléaire éosinophile (obj.100) | 59 |
| Photo 14 : Mastocytose systémique (MO) : Mastocyte fusiforme et dégranulé (obj.100) | 59 |
| Photo 15 : Mastocytose systémique (MO) : Mastocyte dégranulé (obj.100)..... | 59 |
| Photo 16 : Eosinophilie PDGFRA (MO) : Mastocyte et polynucléaire éosinophile atypiques (obj.100) | 69 |
| Photo 17 : Eosinophilie PDGFRA (MO) : Polynucléaires éosinophiles atypiques (vacuoles cytoplasmiques, répartition anormale des grains), un myélocyte éosinophile avec des granulations immatures violettes (tâches de Romanowsky) (obj.100) | 70 |
| Photo 18 : Eosinophilie PDGFRA (MO) : Nombreuses vacuoles cytoplasmiques dans un polynucléaire éosinophile (obj.100) | 70 |
| Photo 19 : Eosinophilie PDGFRA (MO) : Segmentation atypique et répartition anormale des grains dans des polynucléaires éosinophiles (obj.100) | 70 |
| Photo 20 : Néoplasie avec PDGFRB (MO) : Monocytose et lignée neutrophile dystrophique (hypogranularité, hyposegmentation nucléaire) (obj.50)..... | 72 |

| | |
|--|-----|
| Photo 21 : Néoplasie avec PDGFRB (MO) : Myélocyte éosinophile atypique (obj.50) | 72 |
| Photo 22 : Néoplasie avec FGFR1 : Hyperéosinophilie et monocytose (obj.100)..... | 75 |
| Photo 23 : LMMC (MO) : Trois promonocytes (obj.100) | 80 |
| Photo 24 : LMMC (MO) : Dysgranulopoïèse (la flèche désigne un monocyte avec anomalie chromatinienne) (obj.100)..... | 81 |
| Photo 25 : LMMC (MO) : Dismégacaryopoïèse (mégacaryocyte de petite taille, hypolobé (obj.100). 81 | |
| Photo 26 : LMMJ (MO) : Deux promonocytes (au centre), dysgranulopoïèse minime (obj.50) | 86 |
| Photo 27 : ARSC-T (MO) : Dysérythropoïèse marquée avec érythroblastes à cytoplasme feuilleté et ponctué (obj.100) | 90 |
| Photo 28 : ARSC-T (MO) : Sidéroblastes de type III sur la coloration de Perls (obj.100) | 90 |
| Photo 29 : ARSC-T (MO) : Mégacaryocyte dystrophique (obj.50) | 90 |
| Photo 30 : (MO) : Mégacaryocyte monolobé « type 5q- » (obj.50)..... | 96 |
| Photo 31 : (MO) : Mégacaryocyte hypolobé « type 5q- » (obj.50) | 96 |
| Photo 32 : (Sg) : Polynucléaire neutrophile avec pseudo-Pelger complet, anomalie de la condensation nucléaire, vacuole cytoplasmique (obj.100) | 97 |
| Photo 33 : (MO) : Différenciation promyélocytaire (à gauche) et blaste agranulaire (à droite) (obj.100) | 105 |
| Photo 34 : LAM t(8;21) (MO) : Blaste de taille moyenne, à corps d'Auer (à droite) et blaste indifférencié de petite taille (à gauche) (obj.100) | 124 |
| Photo 35 : LAM t(8;21) (MO) : Blastes à corps d'Auer unique « planté » dans la zone du Golgi (obj.100) | 124 |
| Photo 36 : LAM t(8;21) (MO) : Précurseur neutrophile dystrophique et blaste à corps d'Auer (obj.100) | 125 |
| Photo 37 : LAM t(8;21) (MO) : Métamyélocyte éosinophile et blaste (obj.100) | 125 |
| Photo 38 : LAM inv(16) (MO) : Eléments éosinophiles dystrophiques (à gauche, précurseur à grosses granulations pourpres ; à droite, élément mature à noyau hypolobé) (obj.100)..... | 126 |
| Photo 39 : LAM inv(16) (MO) : Contingent monocytaire augmenté et dystrophique, un éosinophile dystrophique (obj.100) | 127 |
| Photo 40 : LAM t(15;17) forme classique (MO) : Promyélocyte hypergranulaire à noyau bilobé (obj.100) | 128 |
| Photo 41 : LAM t(15;17) forme classique (MO) : Promyélocyte atypique (hypergranulaire, à noyau irrégulier) (obj.100)..... | 128 |
| Photo 42 : LAM t(15;17) forme classique (MO) : Corps d'Auer en fagot (obj.100) | 129 |

| | |
|---|-----|
| Photo 43 : LAM t(15;17) forme microgranulaire (MO) : Promyélocytes bilobés, hypogranulaires, sans corps d'Auer (obj.100) | 129 |
| Photo 44 : LAM t(15;17) forme microgranulaire (MO) : Nombreux corps d'Auer non regroupés en fagot dans un promyélocyte bilobé et microgranulaire (obj.100)..... | 129 |
| Photo 45 : LAM t(9;11) (MO) : Population homogène de monoblastes (obj.100)..... | 131 |
| Photo 46 : LAM t(9;11) (MO) : Promonocyte (obj.100) | 131 |
| Photo 47 : LAM t(9;11) (MO) : Un monoblaste (à droite), trois promonocytes (à gauche) (obj.100) .. | 131 |
| Photo 48 : LAM t(6;9) (MO) : Blastes sans particularité morphologique (obj.100) | 133 |
| Photo 49 : LAM t(6;9) (MO) : Basophilie (obj 100) | 133 |
| Photo 50 : LAM inv(3) (MO) : Amas de micromégacaryocytes (obj.50)..... | 134 |
| Photo 51 : LAM inv(3) (MO) : Micromégacaryocytes et blastes indifférenciés (obj.50)..... | 134 |
| Photo 52 : LAM inv(3) (MO) : Un mégacaryoblaste et un érythroblaste dystrophique (obj.100) | 134 |
| Photo 53 : LAM t(1;22) (MO) : Blastes à différenciation mégacaryoblastique (obj.100)..... | 135 |
| Photo 54 : LAM avec NPM1 (MO) : Blastes avec des invaginations nucléaires ou « <i>cup-like nuclei</i> » (obj.100) | 137 |
| Photo 55 : (MO) : Mégacaryocyte dystrophique de petite taille (multinucléé ou en « sac de bille ») (obj.100) | 139 |
| Photo 56 : (MO) : Dysérythroïèse marquée et un blaste indifférencié (obj. 50) | 139 |
| Photo 57 : (MO) : Dysérythroïèse, dysgranulopoïèse associées à des myéloblastes (obj.50)..... | 140 |
| Photo 58 : LAM peu différenciée (MO) : Blastes de taille hétérogène, peu différenciés, à chromatine très fine, avec des nucléoles visibles (obj.100) | 147 |
| Photo 59 : LAM sans maturation (MO) : Myéloblastes à corps d'Auer fins et isolés (obj.100) | 149 |
| Photo 60 : LAM sans maturation (MO) : Blastes d'allure lymphoïde, sans granulation (obj.100)..... | 149 |
| Photo 61 : LAM sans maturation (MO) : Discrets corps d'Auer vus à la coloration MPO (obj.100) | 149 |
| Photo 62 : LAM avec maturation (MO) : Blastes à un rapport N/C élevé associés à une maturation granuleuse dystrophique (obj.100) | 150 |
| Photo 63 : LAM avec maturation (MO) : Myéloblastes à grains, avec nucléoles proéminents (obj.100) | 150 |
| Photo 64 : LAM myélomonocytaire (MO) : Population composite de blastes indifférenciés, de monocytes immatures, de maturation granuleuse dystrophique (obj.100)..... | 152 |
| Photo 65 : LAM monoblastique et monocytaire (MO) : Promonocytes (obj.100)..... | 153 |
| Photo 66 : LAM monoblastique et monocytaire (MO) : Monoblastes (obj.100) | 153 |

| | |
|--|-----|
| Photo 67 : LAM érythroblastique (MO) : Population composite d'érythroblastes et de blastes indifférenciés (obj.100)..... | 155 |
| Photo 68 : LAM mégacaryoblastique (MO) : Blastes et maturation dystrophique (obj.50) | 157 |
| Photo 69 : Leucémie CD4/CD56+ (MO) : Blastes à noyaux irréguliers, à cytoplasmes « émettant des pseudopodes » et pourvus de nombreuses vacuoles (obj.100) | 166 |

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.