

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTE DE MEDECINE.
DEPARTEMENT DE PHARMACIE.

Intérêt du dosage des chaînes légères libres sériques des immunoglobulines dans les gammopathies monoclonales

Mémoire de fin d'études

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie

Session : Juin 2016.

Soutenu le : 05/06/2016

Présenté par :

- ARIDJ Meriem
- KOUDRI Mustapha
- RAHEL Fella

Encadreur :

Dr M.L. BOUDJELLA, *maître assistant en immunologie*, faculté de médecine de Blida.

Membres du jury :

- **Président :** Pr Y. BOUCHEDOUB, *maître de conférences en immunologie*, faculté de médecine de Blida.
- **Examineurs :**
 - Dr O. RENDJA, *maître assistant en immunologie*, faculté de médecine de Blida.
 - Dr L. OULD ALI, *assistante en immunologie*, faculté de médecine de Blida.

Remerciements

A Monsieur le Professeur MAGHLAOUI

On vous remercie de l'intérêt que vous portez à ce travail. Recevez ici toute notre reconnaissance et l'expression de notre plus profond respect.

A Monsieur le professeur BOUCHEDOUB

Vous nous faites l'honneur de présider le jury de notre mémoire. Nous tenons à vous remercier pour l'intérêt que vous avez porté à notre travail, ainsi que pour vos conseils pertinents tout au long de cette année.

A Monsieur le Docteur BOUDJELLA

C'est pour nous un honneur de vous avoir comme encadreur. Que l'aboutissement de ce travail témoigne de toute notre reconnaissance et notre respect.

A Madame le Docteur OULD ALI Monsieur le Docteur RENDJA

On vous présente nos sincères remerciements quant à votre contribution à la correction de ce travail et d'y avoir apporté vos précieuses remarques.

A tout le personnel paramédical du laboratoire d'immunologie de l'UHU Hassiba Ben Bouali

On profite de cette page pour remercier chaleureusement l'ensemble des membres du laboratoire d'immunologie de l'UHU Hassiba Ben Bouali pour leur accueil, leur disposition, leur aide et leur bonne humeur.

A Madame le Docteur GUEZLANE

Recevez notre sincère gratitude pour la mise à disposition de certaines de vos données, qui ont apporté à notre thèse d'essentiels éléments de recherche et de nous avoir accueilli parmi vous.

A Madame le Docteur MESSOUDANI, ainsi qu'à tout le personnel travaillant sur la paillasse d'immunologie du laboratoire centrale du CHU de Bab El Oued. On vous remercie profondément pour votre accueil et pour avoir mis à notre disposition le matériel nécessaire qui nous a permis d'effectuer ce travail.

Dédicace d'ARIDJ Meriem

Je dédie mon travail :

A mes parents, ma très chère mère et mon père : Aucune dédicace ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur

A mon frère : Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.

A tous mes amis et mes collègues.

Dédicace de KOUDRI Mustapha

Je dédie ce mémoire :

A mes chers parents qui m'ont toujours réconforté au courant de mon cursus universitaire, je les remercie profondément pour leur soutien inconditionnel,

A mes deux frangins Adlane et Fayçal à qui je souhaite beaucoup de succès dans leurs études,

A ma très chère tante Safia qui a toujours été à mes côtés.

Je le dédie également à mes amis d'antan Mehdi, Abdelbasset, Asma et Fatma.

Dédicace de RAHEL Fella

A ma mère

Qui s'est toujours sacrifiée pour le bonheur et la réussite de ses enfants. Puisse Dieu l'accueillir en son vaste paradis.

A mon père, ma petite sœur et mon frère

Pour leur soutien et leur présence tout au long de ces années, leur amour et leur patience.

A mes tantes et mes oncles, mes cousines et cousins

Je les remercie de m'avoir soutenue et encouragée dans les difficultés.

A mon époux

Pour sa patience, son soutien et son dévouement, qui me poussent à donner le meilleur de moi-même.

A Ikram et Ilhem

Pour notre amitié si précieuse et leur présence dans les moments difficiles.

A Mustapha et Meriem

Apprendre à vos côté a été un réel plaisir. Je garderai un excellent souvenir de notre stage ensemble.

TABLE DES MATIERES

<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>PARTIE THÉORIQUE : REVUE DE LA LITTÉRATURE</u>	2
I. Gammopathies monoclonales	3
1. Historique	4
2. Physiologie des immunoglobulines	5
2.1. Définition et généralités	5
2.2. Structure de base des immunoglobulines	5
2.3. Biosynthèse des immunoglobulines	6
2.4. Hétérogénéité des immunoglobulines	6
3. Immunoglobuline monoclonale	8
3.1. Définition et caractéristiques	8
3.2. Exploration de l'immunoglobuline monoclonale	9
3.3. Circonstances d'apparition de l'immunoglobuline monoclonale	10
4. Gammopathie monoclonale de signification indéterminée	11
4.1. Définition	11
4.2. Epidémiologie	11
4.3. Physiopathologie	11
4.4. Diagnostic	13
4.5. Diagnostic différentiel	13
4.6. Suivi et pronostic	14
5. Myélome multiple	17
5.1. Définition	17
5.2. Epidémiologie	17
5.3. Facteurs de risque	17
5.4. Physiopathologie du myélome multiple	18
5.5. Présentation clinique du myélome multiple	23
5.6. Exploration immunologique du myélome multiple	26
5.7. Diagnostic	31
5.8. Critères pronostiques	32
5.9. Prise en charge thérapeutique	34
6. Autres gammopathies monoclonales	37
6.1. Maladie de Waldenström	37
6.2. Amylose AL	37
6.3. Maladie des chaînes lourdes	37
6.4. Syndrome de POEMS	38
6.5. Les leucémies	38

II. Chaînes légères libres des immunoglobulines	39
1. Biologie des chaînes légères libres	40
1.1. Structure	40
1.2. Biosynthèse	40
1.3. Catabolisme et clairance	40
2. Méthodes d'étude des chaînes légères libres d'immunoglobulines	41
2.1. L'Electrophorèse	41
2.2. L'immunofixation	41
2.3. Dosage des chaines légères libres (Freelite®)	42
3. Applications cliniques du dosage des chaînes légères libres dans les gammopathies monoclonales	44
4. Conséquences de l'augmentation des chaînes légères libres sérique	46
<u>PARTIE PRATIQUE</u>	49
Objectif du mémoire	50
Patients et méthodes	51
Résultats	55
1. Isotype du composant monoclonal	57
2. Répartition des patients selon les critères de l'International Staging System	57
3. Comparaison des paramètres clinico-biologiques entre les patients myélome multiple et MGUS	58
4. Taux sériques des chaines légères libres	62
5. Paramètres biologiques et rapport κ/λ	63
6. Corrélations du rapport κ/λ et des CLL totales avec les différents paramètres biologiques sériques	65
7. Courbes de survie	66
8. Comparaison des différents moyens de diagnostics effectués avec le test Freelite® pour les deux groupes de patients	68
Discussion	69
Conclusion	73
Perspectives et recommandations	75
<u>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	76
<u>ANNEXES</u>	89

LISTE DES TABLEAUX

	<i>Page</i>
Tableau 1 : Types de translocations retrouvées dans les MGUS et leur fréquence	12
Tableau 2 : Calcul du score pronostic des MGUS	16
Tableau 3 : Atteinte rénale et myélome	25
Tableau 4 : Classification selon Durie & Salmon, 1975	33
Tableau 5 : International staging system (ISS)	33
Tableau 6 : Valeurs moyennes et normes des concentrations des CLL et des ratios κ/λ dans les sérums de 282 individus sains	43
Tableau 7 : Score pronostic des MGUS au diagnostic : estimation du risque d'évolution à 20 ans. Facteurs de risque : MGUS non IgG, pic supérieur à 15 g/l, κ/λ anormal	45
Tableau 8 : Score pronostic des plasmocytomes solitaires au diagnostic : estimation du risque d'évolution à 5 ans facteurs de risque : pic à 5 g/l à 2 ans du diagnostic, κ/λ anormal au diagnostic	45
Tableau 9 : Score pronostic des myélomes indolents : estimation du risque d'évolution à 5 ans facteurs de risque : $\kappa/\lambda < 0.125$ ou > 8 , plasmocytose médullaire $\geq 10\%$, pic MC ≥ 30 g/l	45
Tableau 10 : Score pronostic des myélomes au diagnostic : estimation de la survie médiane facteurs de risque : $\kappa/\lambda < 0.03$ ou > 32 , albumine < 35 g /l, $\beta 2m \geq 3.5$ mg/100ml	46
Tableau 11 : indications du dosage des CLL pour l'évaluation de la réponse	46
Tableau 12 : répartition des patients MM et MGUS selon l'âge	52
Tableau 13 : type du composant monoclonal sérique dans la population étudiée	57
Tableau 14 : Répartition des patients selon la classification de l'ISS	58

LISTE DES FIGURES

	<i>Page</i>
Figure 1 : Représentation schématique d'une IgG	6
Figure 2 : Hétérogénéité des Ig	7
Figure 3 : A) EPS d'un individu sain, B) EPS présentant un pic monoclonal	9
Figure 4 : Immunofixation des protéines sériques	10
Figure 5 : Score prédictif établi de l'évolution des MGUS	16
Figure 6 : Homing des cellules plasmocytaires dans la moelle osseuse	20
Figure 7 : Mécanisme de l'activité ostéoclastique dans le myélome multiple : rôle du système OPG / RANK / RANKL	23
Figure 8 : Radiographie de crâne (profil)	24
Figure 9 : EPS et immunofixation chez un patient atteint de MM par apport à un individu sain	27
Figure 10 : Aspect morphologique des cellules plasmocytaires dans leurs différents stades de maturation	30
Figure 11 : Néphron montrant la filtration, le métabolisme et l'excrétion des chaînes légères libres	40
Figure 12 : Dosage sérique des chaînes légères libres par technique néphélométrique ou turbidimétrique	41
Figure 13 : Relation concentration-dépendante entre les CLL κ et λ	42
Figure 14 : Répartition des patients MM et MGUS selon l'âge	52
Figure 15 : Répartition des patients MM selon le sexe	52
Figure 16 : Répartition des patients MGUS selon le sexe	52
Figure 17 : Répartition des patients MM et MGUS selon l'isotype du CM	56
Figure 18 : Répartition des patients MM selon le stade ISS	57
Figure 19 : Répartition des patients atteints de MM selon leur taux de plasmocytose médullaire	57
Figure 20 : Comparaison entre la plasmocytose des MM vs MGUS	57
Figure 21 : Comparaison de la calcémie chez les MM vs MGUS	58
Figure 22 : Comparaison de la créatininémie des MM vs MGUS	58
Figure 23 : Comparaison des taux d'hémoglobine chez les MM vs MGUS	59
Figure 24 : Répartition des patients MM selon la présence ou non d'atteintes osseuses	59
Figure 25 : Répartition des patients MM selon leur taux de $\beta 2m$	60
Figure 26 : Comparaison entre les taux de $B2m$ des MM vs MGUS	60
Figure 27 : comparaison de l'albuinémie chez les MM vs MGUS.	61
Figure 28 : comparaison du taux de la CRP chez les MM vs MGUS.	61
Figure 29 : Répartition des patients MM selon la valeur de leur rapport κ/λ du sérum de diagnostic	62
Figure 30 : Répartition des patients MGUS selon la valeur de leur rapport κ/λ du sérum de diagnostic	62
Figure 31 : comparaison du rapport κ/λ des patients MM vs MGUS	62
Figure 32 : Comparaison de l'albuminémie entre les patients ayant un rapport κ/λ normal ou non	63
Figure 33 : Comparaison de la plasmocytose entre les patients ayant un rapport κ/λ normal ou non	63

Figure 34 : Comparaison de l'hémoglobémie entre les patients ayant un rapport κ/λ normal ou non	64
Figure 35 : Comparaison de la créatininémie entre les patients ayant un rapport κ/λ normal ou non	64
Figure 36 : Comparaison de la plasmocytose entre les patients ayant un rapport κ/λ normal ou non	65
Figure 37 : corrélation entre le taux des CLL totales et le taux de composant MC	65
Figure 38 : Corrélation entre le rapport κ/λ et le taux du composant monoclonal.	66
Figure 39 : Comparaison des courbes de survie des patients MM vs MGUS.	66
Figure 40 : Comparaison des courbes de survie des patients MM en fonction des stades de l'ISS.	67
Figure 41 : Comparaison des courbes de survie en fonction du rapport κ/λ des patients MM	67
Figure 42 : comparaison des moyens diagnostics du MM et du MGUS.	68
Figure 43 : comparaison des moyens diagnostics du MM	68

LISTE DES ABRIVIATIONS

AA : acides aminés.	MGW : macroglobulinémie de Waldenström.
β2m : β2-microglobuline.	MM : myélome multiple.
CLL : chaînes légères libres.	MO : moelle osseuse.
CM : composant monoclonal.	MP : maladie progressive.
CRP : protéine C réactive.	MS : maladie stable.
CSH : cellules souches hématopoïétiques.	OC : ostéoclastes.
EPS : électrophorèse des protéines sériques.	OMS Organisation mondiale de la santé.
EPU : électrophorèse des protéines urinaires.	OPG : Ostéoprotégérine
FISH : Fluorescence Interphase In situ Hybridization.	PBJ : protéinurie de Bence Jones.
GM : gammopathies monoclonales.	PM : poids moléculaire.
Hb : hémoglobine.	RANK : Receptor Activator of nuclear factor κ B
IFx : immunofixation.	RANKL : RANK Ligand
Ig : immunoglobuline.	RC : réponse complète.
Igm : immunoglobuline monoclonale.	RCs : réponse complète stricte.
IMWG : international myéloma working group.	RP : réponse partielle.
IMiDs : médicaments immunomodulateurs	SMM : smoldering myeloma multiple.
IR : insuffisance rénale.	TBRP : très bonne réponse partielle.
IRM : imagerie par résonance magnétique.	TDM : tomodensitométrie.
ISS : international staging system.	VS : vitesse de sédimentation.
κ : kappa.	
κ_L : kappa libres	
λ : lambda.	
λ_L : lambda libres	
LCDD : lights chains deposit diseases.	
MC : monoclonale.	
MCL : maladie des chaînes lourdes.	
MGUS : gammopathie monoclonale de signification indéterminée.	

Introduction :

Les gammopathies monoclonales (GM), appelées aussi dysglobulinémies monoclonales ou immunoglobulinopathies monoclonales, sont le résultat d'une prolifération monoclonale de type lymphocytaire B, plasmocytaire ou lymphoplasmocytaire, produisant en quantité variable une immunoglobuline monoclonale (Igm) que l'on peut ainsi retrouver dans le sang et/ou les urines. Associées à des pathologies très variées, les GM sont détectées chez environ 3% des sujets de plus de 50 ans, et jusqu'à 7% de ceux de plus de 70 ans (*Kyle & al, 2002*).

Sur le plan clinique on distingue deux entités de GM : les GM malignes et les GM bénignes, En effet celles-ci doivent être considérées comme des situations intermédiaires « pré-malignes », a risque d'évolution vers une maladie maligne avérée, ce que les anglo-saxons traduisent en les qualifiant de « monoclonal gammopathy of undetermined signification » (MGUS). Ces dernières représentent environ 62% des GM, alors que les GM malignes n'en représentent que 38% (*Kyle & Rajkumar, 2006*).

Le diagnostic des GM repose sur la triade des examens cliniques, immunologiques et biologiques. Le diagnostic immunologique repose sur la réalisation d'une analyse conjointe du sérum et des urines, utilisant les différents outils diagnostics que sont l'électrophorèse des protéines sériques (EPS), l'immunofixation (IFx), et le dosage des immunoglobulines (Ig).

Depuis 2001, la disponibilité d'une technique de dosage spécifique des chaînes légères libres (CLL) des Ig fait de cette technique un des outils majeurs de diagnostic immunologique des GM. Devant la mise au point de ce nouveau paramètre, le nombre d'études cliniques évaluant son intérêt dans les différentes GM a augmenté de façon exponentielle (*Rivier, 2012*).

L'objet de ce mémoire est d'évaluer l'intérêt du dosage sérique des CLL dans le diagnostic et le suivi des GM.

PARTIE THÉORIQUE :
REVUE DE LA
LITTÉRATURE

Chapitre I :

Gammopathies monoclonales.

1. Historique :

Les premières descriptions de GM sont liées à des observations de myélome ; elles sont rapportées en 1845 par le docteur Henry Bence Jones, qui met en évidence une protéine anormale dans les urines d'un patient présentant des dorsalgies intenses (*Bence Jones, 1848*).

Le terme de « myélome multiple » (MM) apparaît pour la première fois en 1873 dans une publication du docteur Von Rustizky (*Von Rustizky, 1873*).

Il y a peu d'intérêt pour cette maladie, jusqu'à ce qu'Otto Kahler, un neurologue tchèque, qui décrit en 1889 le cas d'un médecin de quarante-six ans qui souffre de cette maladie (*Kahler, 1889*).

Le diagnostic du myélome reste difficile jusque dans les années 1930 (*Geschickter, 1930*), date à laquelle le myélogramme devient un examen plus courant.

En 1937, le développement de l'électrophorèse des protéines plasmatiques et urinaires permet d'identifier les protéines anormales comme des Ig particulières. L'immunoélectrophorèse en 1953, permet l'identification exacte des protéines monoclonales (MC). La première grande enquête scientifique sur les GM est réalisée aux Etats-Unis en 1960 par la Mayo Clinic. Elle permet de conclure que les patients présentant un pic MC dans le sang peuvent développer ultérieurement un MM, des affections apparentées comme la macroglobulinémie de Waldenström (MGW) (décrite en 1944), la leucémie lymphoïde chronique, d'autres affections comme des maladies auto-immunes, des tumeurs solides, des infections bactériennes, virales, ou rester, dans la majorité des cas, asymptomatiques (gammopathie monoclonale d'origine indéterminée ou MGUS).

La présence de CLL des Ig dans les urines a été décrite pour la première fois en 1847 (*Bence Jones, 1847*), quand le Dr. Henry Bence Jones publia ses recherches.

En 2001, le test Freelite® pour le dosage des CLL sériques a été lancé, et un article soulignant l'utilité clinique de Freelite® pour le remplacement des protéines de Bence Jones a été publié dans la revue The Lancet. En 2009, L'International Myeloma Working Group (IMWG) publie les recommandations d'utilisation de Freelite® pour le dépistage, le pronostic et la réponse au traitement (*Freelite® The Binding Site, test des CLL sériques, brochure informative*).

2. Physiologie des immunoglobulines :

2.1 Définitions et généralités :

Les Ig, base de l'immunité à médiation humorale, sont des glycoprotéines complexes de haut poids moléculaire (PM), présentes sous deux formes : soit sous forme membranaires à la surface des lymphocytes B, soit circulantes dans les divers milieux biologiques.

Une des caractéristiques principales des Ig est l'hétérogénéité structurale et fonctionnelle nécessaire à la diversité de reconnaissance des multiples antigènes présents dans l'environnement.

2.2 Structure de base des immunoglobulines :

Malgré la grande variété de leur spécificité anticorps, les Ig possèdent en commun, une structure de base, correspondant au modèle de l'IgG, symétrique en Y et pluri-caténaire comprenant quatre chaînes polypeptidiques homologues 2 à 2 et reliées par des ponts disulfures :

- Deux chaînes lourdes identiques « H » (Heavy) de PM = 50 kDa ; d'environ 450 à 600 acides aminés (AA) (*Attal, 2013*).
- Deux chaînes légères identiques « L » (light) de PM = 25 kDa, d'environ 210 à 220 AA (*Attal, 2013*) et qui sont de deux types : kappa (κ) ou lambda (λ) et qui peuvent se combiner avec n'importe quel type de chaîne lourde. Pour une Ig donnée, les deux chaînes légères sont toujours identiques.

Les chaînes légères et lourdes sont constituées de domaines qui sont des régions globulaires formées chacune d'une boucle polypeptidique de 110 AA organisée en feuillets plissés β et stabilisée par un pont disulfure intra-caténaire. L'analyse du degré de variabilité de la composition en AA montre que le domaine N-terminal de chaque chaîne, lourde ou légère, est variable et appelé respectivement VH et VL. Les domaines C-terminaux 1 pour la chaîne légère CL et 3 ou 4 pour les chaînes lourdes notés CH sont eux relativement invariants. L'Ig présente donc une dualité structurale qui explique sa dualité fonctionnelle. (*Chevallier, 2004*)

Au sein de ces domaines variables existent trois régions hypervariables, ou CDR (complementary determining region), séparées dans la séquence primaire par des régions charpente (FR pour framework regions).

Le repliement des chaînes peptidiques des régions VH et VL permet de rapprocher dans l'espace les CDR qui forment chacun une boucle, l'ensemble constituant le site de liaison à l'antigène, appelé paratope.

Entre les deux premiers domaines constants des chaînes lourdes, il existe relativement une séquence relativement linéaire qui contient les ponts disulfures inter-chaînes lourdes appelée région charnière.

Des motifs oligosaccharidiques sont attachés au domaine CH2 de la plupart des Ig. Dans certains cas, ces oligosaccharides peuvent aussi être attachés sur d'autres parties de la molécule.

Une IgG correspond donc à une molécule de formule H_2L_2 (**figure 1**).

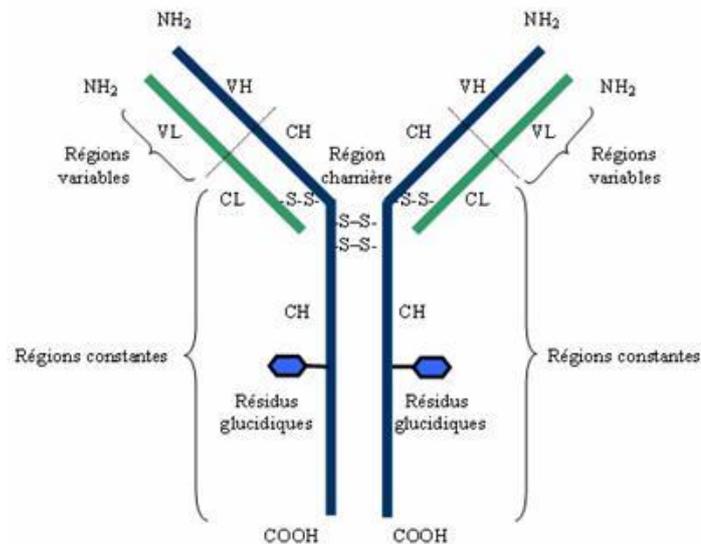


Figure 1: Représentation schématique d'une IgG

2.3 Biosynthèse des immunoglobulines :

La synthèse des Ig est assurée par les cellules de la lignée B au niveau de la moelle osseuse (MO), la reconnaissance de l'antigène par les Ig membranaires déjà produites par les lymphocytes aux premiers stades de maturation se traduit par le phénomène de différenciation et de prolifération aboutissant aux plasmocytes, cellules qui synthétisent, stockent et excrètent les Ig.

Les chaînes légères et lourdes des Ig sont synthétisées par la même cellule mais indépendamment les unes des autres avec un excès des chaînes légères par rapport aux chaînes lourdes.

Sur le plan génétique, les chaînes légères et lourdes sont codées par trois familles multigéniques distinctes localisées sur des chromosomes différents : chaînes λ sur le chromosome 22, chaînes κ sur le chromosome 2, chaînes lourdes sur le chromosome 14, un grand nombre de segments géniques codent pour la région variable alors que seul un petit nombre de segments géniques codent pour la région constante. On distingue :

- Les familles multigéniques des chaînes légères contiennent 3 groupes de gènes séparés d'exons : V, J et C (V et J : codent pour la partie variable, C : code pour la partie constante) ;
- La famille multigénique des chaînes lourdes contient 4 groupes séparés d'exons : V, D (pour diversité), J et C (V, D et J codent pour la partie variable, C codant pour la partie constante).

2.4 Hétérogénéité des immunoglobulines :

Du point de vue structural, on peut mettre en évidence trois niveaux d'hétérogénéité des Ig définis par des déterminants antigéniques : les isotypes, les allotypes et les idiotypes (**figure 2**).

- Isotypes :

Déterminants antigéniques localisés sur les domaines constants des chaînes lourdes et légères. Ils sont identiques d'un individu à l'autre au sein d'une même espèce, Chez l'homme il existe neuf isotypes de chaînes lourdes qui correspondent aux classes et sous classes des Ig : IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA (IgA1, IgA2), IgM, IgD, IgE et deux isotypes de chaînes légères : κ et λ . Tous ces isotypes sont présents dans le sérum de tous les êtres humains à des concentrations relativement analogues d'un individu à l'autre.

- Allotypes :

Déterminants antigéniques qui permettent de distinguer les Ig de deux individus ou de groupes d'individus au sein d'une même espèce pour une même classe et sous-classe. Ce sont des différences structurales ponctuelles qui touchent soit la séquence d'AA soit la séquence en oligosaccharides, à transmission autosomique codominante. Ils sont présents au niveau de régions constantes des chaînes lourdes, des chaînes λ et des chaînes κ .

- Idiotypes :

Déterminants antigéniques qui caractérisent un anticorps d'un clone donné chez un individu. Elles sont portées par les domaines variables des Ig, ce sont des différences en AA dans la région hypervariable responsable de la spécificité du site anticorps.

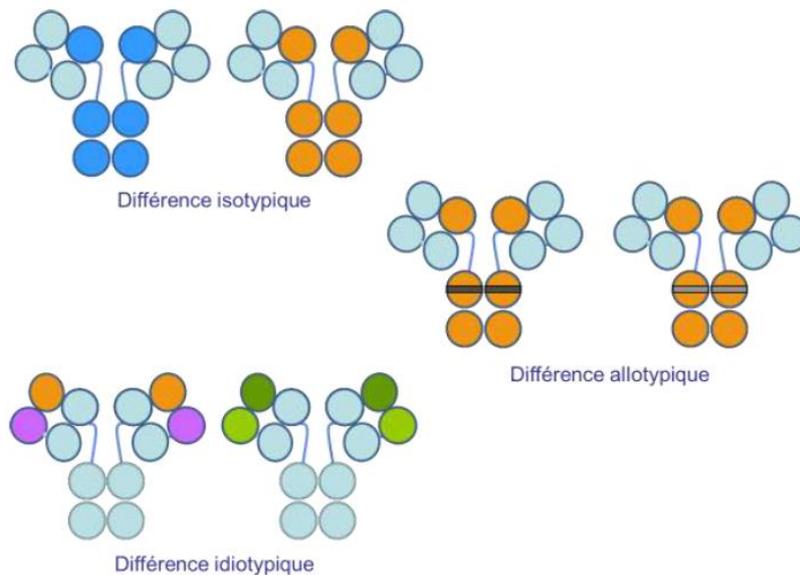


Figure 2: Hétérogénéité des Ig (Batteux & al, ASSIM)

Cette hétérogénéité structurale des Ig est responsable des propriétés de la migration électrophorétique, qui reflète une production hétérogène et polyclonale. A l'opposé de l'homogénéité des Igm.

3. L'immunoglobuline monoclonale :

3.1. Définition et caractéristiques :

Une Igm se caractérise par l'augmentation sélective d'une seule espèce moléculaire d'Ig sérique et/ou urinaire, sa synthèse est causée par la prolifération incontrôlée d'un clone unique de lymphocytes B (malin ou hyperstimulé). Elle est constituée soit d'une seule classe de chaîne lourde et d'un seul type de chaîne légère, soit de chaînes légères isolées d'un seul type, soit beaucoup plus rarement de fragments de chaînes lourdes d'une seule classe. D'une manière générale, la structure d'une Igm est normale, ce qui est anormal c'est sa production excessive. Sa présence n'est pas systématiquement synonyme de malignité (medical-dictionary.thefreedictionary.com).

A la différence des Ig physiologiques, les Igm possèdent un caractère homogène, cette homogénéité est révélée à l'électrophorèse des protéines et elle est reflétée par les critères suivants : (medecine.ups-tlse.fr)

- L'identité de charge électrique :

Les molécules d'Igm ayant la même structure primaire, la même séquence d'AA, leur charge électrique globale est donc équivalente. Il en résulte une mobilité électrophorétique homogène, objectivée par une bande étroite sur le support de migration ou un pic étroit sur le tracé. Ce pic les différencie des augmentations polyclonales d'Ig qui migrent selon une bande large. Il est très souvent retrouvé dans la zone des gammaglobulines. Cependant il peut se trouver superposé à d'autres protéines (zone $\alpha 1$ voire $\alpha 2$ plus rarement).

- L'identité structurale :

La population d'Igm ne possède qu'un seul type de chaîne lourde et un seul type de chaîne légère. Cette identité structurale sera d'ailleurs à la base du typage immunochimique par les techniques d'IFx.

- L'identité immunologique :

L'ensemble des Igm ont les mêmes déterminants iso-, allo- et idiotypiques. Elles possèdent donc la même activité anticorps, mais celle-ci n'est que très rarement recherchée.

Il existe 2 types d'Igm :

- Igm complète : deux chaînes lourdes de même classe et sous classe avec deux chaînes légères de même type.
- Igm incomplète :
 - Chaînes légères libres MC de type κ ou λ ; pic MC très discret ou absent à l'électrophorèse.
 - Chaînes lourdes MC (rare) de type gamma (γ), alpha (α) ou mu (μ) ; pic MC inconstant.

3.2. Exploration de l'immunoglobuline monoclonale :

Afin d'affirmer la monoclonalité d'une Ig, il faudrait démontrer l'identité isotypique, allotypique et idiotypique (Varet, 2006). En pratique, le diagnostic d'IgM repose actuellement sur la triade (HAS, 2006) :

- détection d'un pic par l'EPS correspondant à une homogénéité de charge de l'Ig ;
- intégration de ce pic par densitométrie ;
- typage par IFx.

3.2.1. Analyse du sérum :

▪ Électrophorèse des protéines sériques :

L'EPS consiste à faire migrer les protéines sériques sur une membrane d'acétate de cellulose ou en gel d'agarose où elles se séparent en fonction de leur PM et de leur charge électrique.

Différentes fractions protéiques sont identifiées selon leur vitesse de migration électrophorétique : albumine, puis α 1-globulines, α 2-globulines, β -globulines et enfin γ -globulines. L'analyse est qualitative, par l'examen visuel des bandes, et quantitative, par lecture densitométrique du gel (mesure de l'aire sous la courbe).

Elle permet de révéler un pic MC (présence d'une bande étroite) dans la zone de migration des γ -globulines le plus souvent (**figure 3**), ou en zone des β 2-globulines, plus rarement en β 1-globulines ou en α 2-globulines.

Cependant, le pic MC est parfois absent ou discret lorsque le composant MC a une concentration suffisamment faible pour franchir le filtre glomérulaire rénal.

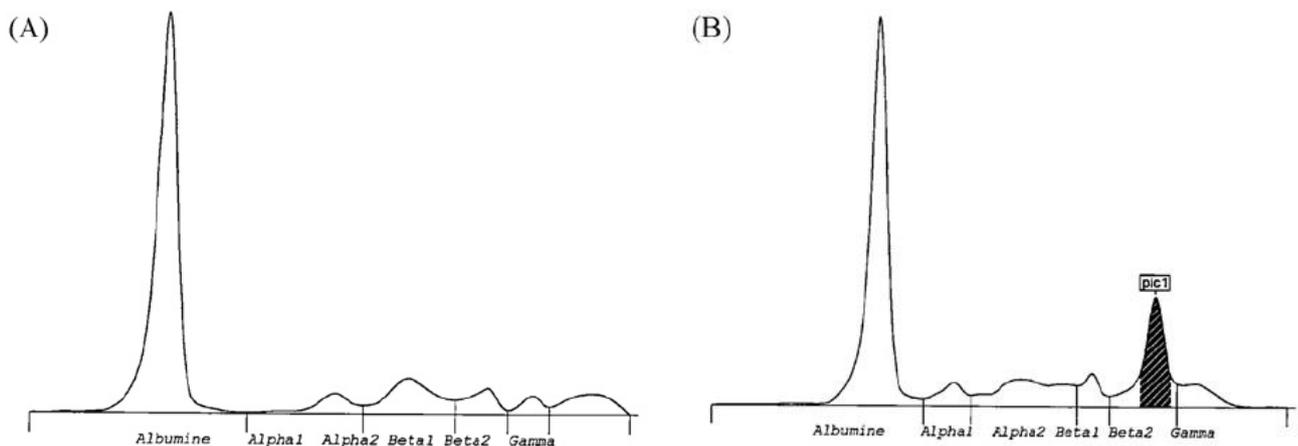


Figure 3 : A) EPS d'un individu sain

B) EPS présentant un pic monoclonal

▪ Immunofixation des protéines sériques :

L'IFx est la technique de référence. Elle permet de confirmer la monoclonalité de la bande détectée à l'EPS et d'identifier l'IgM (**figure 4**). Elle est réalisée par électrophorèse (capillaire automatisée) sur gel d'agarose. L'IFx consiste à séparer les protéines, puis à précipiter *in situ* les chaînes d'Ig avec des immunsérum spécifiques (de la chaîne lourde μ , α , γ et de la chaîne

légère λ ou κ) incubés à la surface du gel. La protéine MC précipite avec l'anticorps multivalent considéré. La révélation se fait à l'aide d'un colorant des protéines. L'Igm apparaît sous forme d'une seule bande. Contrairement à l'EPS, l'IFx ne permet pas la quantification du composant MC.

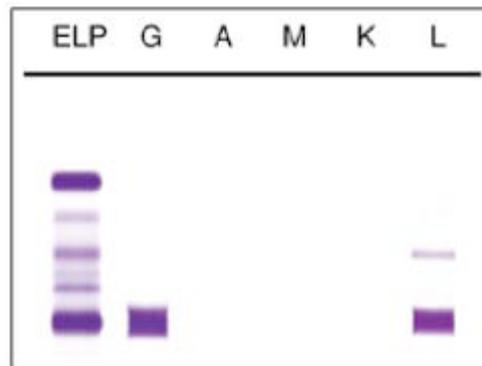


Figure 4 : Immunofixation des protéines sériques (Sebia® HYDRAGEL IF)

IFx : Immunofixation des protéines d'un sérum normal. A droite, profil correspondant à une GM $\gamma 2\lambda 2$, avec des chaînes λ libres (IgG λ).

▪ Dosage pondéral des Ig sériques résiduelles :

Il s'agit d'un dosage quantitatif spécifique des Ig G, A et M par néphélométrie, immunodiffusion radiale ou turbidimétrie. Il évalue la présence ou non d'une diminution des autres classes d'Ig et de renseigner sur les risques infectieux encourus par le patient.

Ce dosage ne permet pas de quantifier le composant MC car il mesure la totalité des Ig d'une même classe, MC et polyclonales. Quand le composant MC est bien individualisé, la quantification par électrophorèse est la seule méthode d'évaluation valable (San Miguel et al, 2006).

3.2.2. Analyse des urines :

La «classique» recherche d'une protéinurie de Bence Jones (PBJ) sur les urines de 24 heures associe une électrophorèse et une IFx. Une protéinurie significative, souvent supérieure à 1 gramme par 24 heures, peut évoquer l'existence d'un passage de CLL MC dans les urines que l'on nomme PBJ.

Le pic de PBJ doit être quantifié sur l'électrophorèse des protéines urinaires (EPU).

3.3. Circonstances d'apparition d'une immunoglobuline monoclonale :

Les circonstances d'apparition d'une Igm sont très variées et peuvent être classées en 2 catégories :

- Gammapathie monoclonale de signification indéterminée, traduction de l'acronyme anglais MGUS.
- Hémopathies malignes, essentiellement MM et MGW.

4. Gammopathie monoclonale de signification indéterminée :

4.1. Définition :

La définition d'une gammopathie monoclonale de signification indéterminée comprend :

- Présence d'une Igm d'abondance limitée (de moins de 30 g/L pour une IgG, 20 g/L pour une IgA) ;
- moins de 10 % de plasmocytose médullaire ;
- pas ou peu de PBJ (moins de 1g/24 heures pour une CLL urinaire) ;
- absence de signes cliniques ou biologiques de toute lymphoprolifération maligne (hypercalcémie, lésion osseuse, insuffisance rénale (IR) ou médullaire) ;
- une stabilité du composant MC pendant un an au minimum, afin d'exclure les MM découverts à leur tout début.

4.2. Epidémiologie :

Le MGUS représente plus de 62% des GM (*Kyle & Rajkumar, 2006*), et est présente chez 3 à 4% de la population générale de plus de 50 ans et jusqu'à 5% des sujets de plus de 70 ans (*Kyle & al, 2006 ; Dispenzieri & al, 2010*) et de l'ordre de 10% après 80 ans (*Decaux & al, 2007*).

L'incidence du MGUS augmente avec l'âge et elle est plus fréquente chez les afro-américain que chez les caucasiens (*Cohen et al, 1998*).

4.3. Physiopathologie:

- Cytogénétique :

La technique FISH (Fluorescence Interphase In situ Hybridization), en utilisant des sondes centromériques spécifiques de chaque chromosome, confirment d'une part que plus de la moitié des patients ayant une MGUS ont un excès de chromosomes dans leurs plasmocytes, et montrent d'autre part que les chromosomes présents en excès dans les plasmocytes des MGUS et du MM sont les mêmes (*Zandecki & al, 1995*), (*Drach & al, 1995*).

D'autres techniques moléculaires modernes ont décelé les mêmes anomalies génétiques au niveau des plasmocytes des MGUS que celles qui caractérisent les myélomes. Ainsi, certaines des translocations qui associent une région précise des gènes des Ig (situés sur le chromosome 14) avec différents oncogènes (cycline D1 sur le chromosome 11, FGFR3 sur le 4, etc...), sont retrouvées dans les MGUS. Ces constatations doivent faire considérer les MGUS non pas comme des maladies authentiquement bénignes mais comme des situations pré-malignes.

Tableau 1 : Types de translocations retrouvées dans les MGUS et leur fréquence (Cortés, 2013)

Translocation	Prévalence	Groupe	Gène dérégulé	Conséquence cellulaire
Translocation IgH	50 %		Cyclin D, FGFR3/MMSET, MAF	
t (11;14) (q13;q32) <i>(Chiecchio & al, 2009)</i> <i>(Fonseca & al, 2002)</i>	15 à 25 %	D group cycline Directe	CCND1	Cycline D1
t (6;14) (p21;q32) <i>(Chiecchio & al, 2009)</i>	1%		CCND3	Cycline D3
t (4;14) (p16;q32) <i>(Fonseca & al, 2004)</i> , <i>(Avet-Loiseau & al, 1999)</i> , <i>(Malgeri & al, 2000)</i>	2-5%	D group cycline indirecte	FGFR-3 et MMSET	Cycline D2
t (14;16) (q32;q23) <i>(Fonseca & al, 2002)</i> , <i>(Ross & al, 2010)</i>	3-5%	MAF translocation group	c-MAF upregulation	
t (14;20) (q32;q11) <i>(Chiecchio & al, 2009)</i> , <i>(Ross & al, 2010)</i>	5%		MAFB Upregulation	

- Phénotypes plasmocytaires au cours des MGUS :

L'immunophénotypage, la cytogénétique et la biologie moléculaire des plasmocytes vont dans le sens de l'existence d'au moins deux populations plasmocytaires au cours des MGUS, l'une dont le phénotype les identifierait comme des plasmocytes normaux (polyclonaux, exprimant le CD38 et CD19, mais pas le CD56), et l'autre qui se rapprocherait des plasmocytes du MM (perte de l'antigène CD19, acquisition du CD56, expression plus faible du CD38, anomalies chromosomiques), les proportions de chaque population variant d'un patient à l'autre. La coexistence de ces deux populations plasmocytaires se conçoit bien, l'une produisant l'Ig du pic MC et l'autre produisant une quantité normale d'Ig polyclonales. Le pourcentage moyen de plasmocytes anormaux est de l'ordre de 72% *(Perez-Persona & al, 2007)*. Dans le cas d'une évolution maligne la population plasmocytaire « anormale » se développerait en grand excès, et les mécanismes immunitaires induiraient une baisse du nombre de plasmocytes polyclonaux.

- Microenvironnement et rôle de l'IL6 :

La croissance des plasmocytes tumoraux se réalise avec l'IL-6 produite par les cellules du microenvironnement, en effet pour l'équipe de Blade *(Blade & al, 1998)*, ce sont 37 % des MGUS et 50 % des MM qui ont des valeurs d'IL-6 sérique supérieures aux valeurs normales, avec des valeurs plus élevées dans le MM que dans les MGUS, et plus élevées dans les MGUS que chez les patients témoins. Cependant, après un suivi moyen de 60 mois, ces mêmes auteurs constatent que la valeur sérique de l'IL-6 n'apparaît pas comme un facteur discriminant *(Blade & al, 1998)*.

4.4. Diagnostic :

Le diagnostic d'un MGUS est avant tout un diagnostic d'exclusion. Il faudra donc caractériser la protéine MC et réaliser un bilan clinique, radiologique et biologique plus complet, pour rechercher ou éliminer une lymphoprolifération maligne comme le MM ou MGW. Ce sera finalement en l'absence de l'un quelconque des signes cliniques de lymphoprolifération maligne, et avec un minimum de recul (un an) que l'on envisagera le MGUS.

Les examens pour le diagnostic d'un MGUS chez un patient asymptomatique ayant une GM sont choisis en fonction de l'importance du pic MC :

- Quand le pic est modéré (IgG < 20 g/l ou IgA < 10 g/l) :

Bilan biologique : le bilan biologique ne révèle aucune anomalie et doit inclure :

- Un hémogramme complet incluant leucocytes, hémoglobine (Hb) et plaquettes, pour évaluation du retentissement de l'infiltration plasmocytaire ;
- la calcémie ;
- la créatininémie.

Bilan immunologique :

- EPS, suivie d'une IFx ;
- quantification des Ig ;
- recherche d'une protéinurie (par une technique autre que la bandelette) et une étude complète de celle-ci en cas de positivité.

- Quand le pic est plus important, ajouter les examens complémentaires suivants :

- Myélogramme ;
- examens radiologiques osseux du crâne, du rachis, du bassin, de l'humérus, et du fémur ;
- dosage de la β 2-microglobuline (β 2m).

4.5. Diagnostic différentiel :

La classification proposée par le Groupe international d'étude du myélome (IMWG) permet de faire un diagnostic différentiel entre un MGUS à composante IgG, IgA ou chaîne légère, myélome indolent (SMM) et myélome symptomatique (*Kyle & al, 2006*). Elle fait appel à la plasmocytose médullaire, au taux de composant MC sérique et à l'existence d'éventuelles atteintes organiques (**Voir annexe 1**).

- **Myélome indolent :**

Les MGUS et le SMM sont asymptomatiques et ne s'accompagnent d'aucune atteinte organique le diagnostic du SMM est retenu si le taux du composant MC est supérieur à 30 g/L et/ou si la plasmocytose médullaire est supérieure à 10 %.

- **Myélome multiple symptomatique :**

Le diagnostic de est retenu lorsque la plasmocytose médullaire est supérieure à 10 % et qu'il existe des signes cliniques (anémie, IR, hypercalcémie, lésions osseuses, infections bactériennes à répétition), quel que soit le taux du composant MC.

▪ **Maladie de Waldenström :**

Le diagnostic différentiel des MGUS à composante IgM est la MGW. Le diagnostic de la MGW symptomatique est retenu en cas d'infiltration médullaire supérieure à 10 % associée à des signes cliniques ou biologiques en lien avec l'infiltration médullaire ou la GM, quel que soit le taux du composant MC.

4.6. Suivi et pronostic :

Autrefois appelées « bénignes », les MGUS ne doivent plus être considérées comme tels. Le suivi à long terme des patients montre qu'ils peuvent évoluer vers un MM ou une maladie apparentée.

4.6.1. Surveillance des MGUS :

Pour le suivi d'un patient atteint d'une MGUS il est nécessaire de :

- Réaliser une EPS pour apprécier les variations du composant MC.
- Reprendre les divers examens complémentaires (l'hémogramme, la calcémie, la fonction rénale, le taux de PBJ et éventuellement le taux des Ig polyclonales).

La fréquence de cette surveillance dépend des résultats des examens initiaux. Dans tous les cas un contrôle des principales données biologiques trois mois après le premier bilan est souhaitable pour vérifier la stabilité du composant MC. Ensuite si l'ensemble des données suggère le diagnostic d'une MGUS une surveillance semestrielle est suffisante. Les contrôles doivent être plus fréquents s'il apparaît des éléments cliniques ou biologiques nouveaux. Quand le pic MC est d'importance modérée (IgG < 20 g/ L ou IgA < 10 g/L) chez un patient sans histoire clinique particulière et dont l'examen clinique est normal, il n'est pas nécessaire de réaliser un autre examen complémentaire (*Zandecki & al, 2007*).

4.6.2. Pronostic :

Le risque de progression d'une MGUS vers un MM ou une maladie apparentée est de 1 % par an (*Kyle & al, 2006*). Cependant il existe différents facteurs prédictifs de cette progression. Les paramètres les plus discriminatifs sont :

- le taux du pic MC, et le type d'Ig impliqué ;
- la cytologie médullaire ;
- le rapport des chaînes légères κ/λ sériques.

• **Le taux de composant monoclonal :**

Le taux de l'Igm constitue un élément évolutif essentiel car il reflète bien la masse tumorale. L'importance du pic MC représente le facteur prédictif le plus discriminant selon une étude menée par Kyle et al, avec un risque de progression à 20 ans estimé à 49% quand le pic initial est supérieur à 25 g/l, comparé à 14% lorsqu'il est inférieur à 5 g/l (*Kyle & al, 2002*). Ces données ont été confirmées par d'autres études (*Caers & al, 2010*). A l'heure actuelle, une concentration supérieure à 15 g/l est reconnue comme étant associée à un risque de progression accru et sert donc de valeur de référence.

- **L'isotype du composant monoclonal :**

L'isotype de la chaîne lourde d'Ig est aussi un facteur prédictif de progression. Le risque relatif de progression est estimé à 1,8 pour l'IgA et 1,1 pour l'IgM par rapport à l'IgG (*Blade & al, 1992*), (*Gregersen & al, 2001*).

- **La cytologie médullaire :**

En l'absence de signes cliniques ou biologiques évocateurs d'hémopathie maligne, la ponction médullaire n'est pas réalisée à titre systématique. Si elle est effectuée, une plasmocytose médullaire supérieure à 5% représente un risque accru de progression (*Cesana & al, 2002*), (*Rosinol & al, 2007*).

Le pourcentage de plasmocytes phénotypiquement anormaux est aussi un facteur de progression. Dans une étude sur 407 cas un taux seuil de 95% était retrouvé dans 18% des cas, avec un taux de transformation de l'ordre de 25% à 5 ans (*Perez-Persona & al, 2007*).

- **Taux de chaînes légères libres :**

Le taux de chaînes légères sériques contribue aussi à l'évaluation du risque de progression des MGUS (*Rajkumar & al, 2005*). Sur une cohorte de 1.148 patients MGUS suivis à la Mayo Clinic entre 1960 et 1994, un taux élevé de chaînes légères κ ou λ libres, a été retrouvé chez 64% des patients, avec un rapport κ/λ anormal chez 33% d'entre eux. Ce rapport κ/λ anormal est associé à une augmentation du risque de progression maligne de 16,7% à 10 ans, 35% à 20 ans, comparé respectivement à 5,3% à 10 ans et 12,6% à 20 ans en cas de rapport κ/λ normal. En cas de rapport très anormal ($< 0,125$ ou > 8), le risque est plus élevé, de l'ordre de 60,5 % à 20 ans (*Rajkumar & al, 2005*).

Cependant l'utilisation isolée du dosage sérique des CLL ne permet pas d'apporter un facteur prédictif d'évolution.

- **Les scores prédictifs de l'évolution d'un MGUS :**

Un des meilleurs scores prédictifs a été proposé par Rajkumar (*Rajkumar & al, 2005*) et combine 3 facteurs :

- 1) le taux de la protéine MC ;
- 2) l'isotype (IgG vs non IgG) ;
- 3) le rapport κ/λ .

Ce score définit quatre groupes de patients ayant des risques de transformation maligne très différents (**figure 5**). Il présente l'avantage de ne pas tenir compte de la plasmocytose médullaire.

Tableau 2 : calcul du score pronostic des MGUS (Rajkumar & al, 2005)

Isotype IgG	Oui 0	Non 1
Taux du pic MC sérique	<15g/l 0	>15g/l 1
Rapport κ/λ : 0.26 - 1.65	Normal 0	Anormal 1
Score total	0-3	

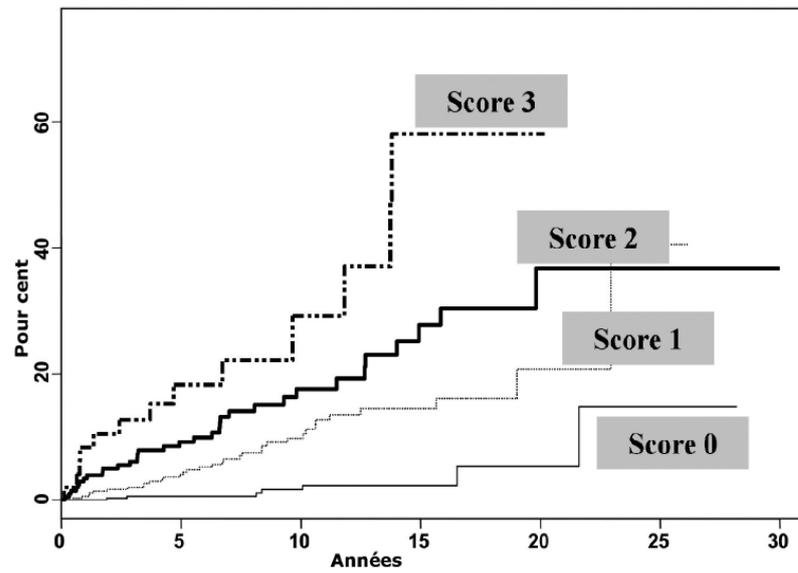


Figure 5 : Score prédictif de l'évolution des MGUS (Rajkumar & al, 2005)

5. Le myélome multiple :

5.1. Définition :

Le myélome multiple, également appelé maladie de Kahler ou myélome plasmocytaire, est une hémopathie maligne classée selon l'OMS (Organisation mondiale de la santé) dans la catégorie des tumeurs à cellules B matures (mature B-cells neoplasms) (*Swerdlow & al. 2008*).

Le MM est une affection caractérisée par une prolifération clonale de plasmocytes tumoraux envahissant la MO hématopoïétique. Le clone plasmocytaire produit et sécrète une Igm dans le sang et/ou dans l'urine. L'Igm, aussi appelée protéine M diffère d'un patient à l'autre (Ig complète, chaînes légères libres).

Le MM évolue d'un état pré-tumoral identifié cliniquement comme un MGUS (*Kyle & al. 2002*). Le MGUS est présent dans 3 à 4% de la population générale de plus de 50 ans. (*Kyle & al. 2006*), (*Dispenzieri & al. 2010*). D'une façon générale, seulement 10% des cas de MM ont une MGUS préexistante au moment du diagnostic. Ceci est dû au fait que le MGUS est asymptomatique et est découvert de manière fortuite à la suite d'une EPS. Cependant, des études ont montré qu'un MGUS précède presque toujours le MM et qu'environ 1% des MGUS évoluent en un MM chaque année. (*Kyle & al. 2006*), (*Landgren & al. 2009*). Le MM indolent (asymptomatique) est considéré comme un stade intermédiaire entre le MGUS et le MM, et est associé à un risque plus élevé d'évolution d'environ 10% par an (*Kyle & al. 2007*).

La présentation clinique du MM peut varier de la forme asymptomatique à des formes sévères. Le plus souvent, l'infiltration plasmocytaire entraîne des lésions osseuses lytiques avec douleurs et fractures. Les plasmocytes malins peuvent aussi infiltrer d'autres organes. L'Igm peut être la cause d'une atteinte rénale ou d'un syndrome d'hyperviscosité.

Le diagnostic est facile, basé sur l'association d'une plasmocytose médullaire excessive, d'une Igm sérique et/ou urinaire, d'une preuve des lésions osseuses et d'un tableau clinique évocateur.

5.2. Epidémiologie :

Le MM représente 1 à 2% de cancers et 10% des hémopathies malignes. Ceci le situe au deuxième rang par ordre de fréquence après les lymphomes non hodgkiniens (*Rajkumar. 2014*).

Le MM est légèrement plus fréquent chez l'homme que chez la femme (avec un *sex ratio* de 1,4/1), et seulement 2% de des patients sont diagnostiqués avant 40 ans (*Kyle & al. 2003*). L'incidence de cette pathologie est double chez les afro-américains par rapport aux caucasiens, tandis qu'elle est plus faible chez les asiatiques. Cette disparité raciale est due à une prévalence plus élevée de MGUS chez les afro-américains (*Landgren & al. 2006*).

5.3. Facteurs de risque :

En dehors des radiations ionisantes et des produits dérivés du pétrole, aucun facteur de risque n'a été clairement identifié. D'autres facteurs environnementaux semblent être incriminés, tels que les pesticides, vu l'incidence plus élevée chez les agriculteurs (*Greenberg & al. 2012*). Des

cas familiaux ont été décrits, faisant discuter des facteurs génétiques, mais ils demeurent exceptionnels (*Riedel & Pottern, 1992*).

5.4. Physiopathologie du myélome multiple :

5.4.1. Anomalies cytogénétiques :

- Événements précoces :

Au cours de la différenciation et à différents moments de l'évolution du plasmocyte malin, plusieurs événements oncogènes vont apparaître. Les études génétiques permettent d'appréhender le stade auquel les événements oncogéniques surviennent. L'événement oncogénique initial affecte le précurseur du plasmocyte. La cellule myélomateuse dérive d'une cellule B mature ; l'existence de mutations somatiques, processus impliqué dans la diversification et l'augmentation de l'affinité des Ig, signe la sélection par l'antigène et le passage par le centre germinatif des organes lymphoïdes secondaires. Les recombinaisons VDJ des Ig sont des marqueurs de monoclonalité, ce qui laisse à penser que l'événement oncogénique précoce se fait au stade de pré-plasmocyte, lors de la maturation des lymphocytes dans le centre germinatif, au moment du « switch » isotypique ou commutation de classe des Ig. Des translocations chromosomiques apparaissent lors de ce « switch » et jouent un rôle important dans la pathogénie du MM. Certains plasmoblastes transformés sont détectés dans le sang périphérique, leur nombre augmente avec la progression de la maladie, et ils sont vraisemblablement responsables de la dissémination du MM (*Pilarski, 2001*).

- Anomalies chromosomiques :

Le développement de nouvelles techniques a profité à l'étude des anomalies cytogénétiques. L'étude FISH des noyaux cellulaires est beaucoup plus sensible que l'étude cytogénétique classique (caryotype). Tous les plasmocytes tumoraux sont anormaux, et l'aneuploïdie (nombre anormal de chromosomes) est l'anomalie la plus habituelle (*Fonseca, 2001*). Les événements précoces, avant l'expansion clonale, correspondent à des translocations chromosomiques vers un locus des gènes des Ig. Les anomalies touchant la région 14q32, qui contient en particulier le gène des IgH, sont observées dans près de 100 % des lignées humaines de myélome, environ 75 % des MM et 50 % des MGUS, soulignant que cette région est possiblement la cible primitive dans la transformation des plasmocytes (*Avet-Loiseau, 2001*). Les loci fréquemment impliqués dans ces translocations comprennent les régions 11q13 [**t (11;14)**], 4p16 [**t (4;14)**] et 16q23 [**t (16;14)**]. Par la suite une instabilité chromosomique marquée va apparaître. La progression vers le MM s'accompagne d'une délétion du bras long du chromosome 13, et du développement de mutations ras. Lors des rechutes ou de la progression ultérieure, des mutations du gène FGFR3 peuvent survenir dans les translocation **t (4;14)**. Des translocations secondaires de c-myc peuvent également survenir tardivement (*Bergsagel & Kuehl, 2001*).

La délétion du chromosome 13q est présente dans environ 20-25 % des MGUS et MM indolents et 40-45 % des MM. Cette délétion 13q- est actuellement reconnue comme un

facteur de mauvais pronostic, indépendamment du taux de $\beta 2m$. Les patients 13q- ont un plus faible taux de réponse à la chimiothérapie conventionnelle, et une survie globale plus courte. Par ailleurs après traitement intensif et autogreffe, la médiane de survie sans événement (*ESF, Event Free Survival*) ou la survie globale (*OS, Overall Survival*) sont également significativement diminuées chez ces sujets (*Drach & al, 1998*). Dans un travail visant à classer les MM et MGUS en fonction des anomalies chromosomiques observées, et à identifier des groupes de bon et mauvais pronostic, une analyse des anomalies chromosomiques par FISH a été réalisée chez plus de 700 cas de MM et près de 200 MGUS ou MM indolents. La translocation **t(11;14)** est observée à tous les stades (MGUS, MM, leucémie à plasmocytes), et est significativement plus fréquente dans les MM à chaînes légères. La translocation **t(4;14)** est significativement plus fréquente dans les MM à IgA, et la translocations **t(14;16)** est particulièrement associée aux leucémies plasmocytaires. Les translocations **t(4;14)** et **t(14;16)** sont rarement observées dans les groupes MGUS et MM indolents, et correspondent probablement à des MM évolutifs d'emblée. Enfin, un groupe de bon pronostic semble ressortir, il s'agit des patients n'ayant pas d'anomalies 14q32, représentant 25 % des MM, le plus souvent IgG (*Avet-Loiseau, 2001*).

5.4.2. Mécanismes de « homing » des plasmocytes tumoraux :

Par des mécanismes de "homing", les plasmoblastes vont se localiser dans la MO, proliférer et se différencier en plasmocytes. Les plasmocytes tumoraux, précurseurs immatures, expriment des molécules d'adhésion et des récepteurs de chemokines permettant des interactions avec le microenvironnement médullaire, et rendant compte de la localisation préférentielle des plasmocytes tumoraux dans la MO pendant une grande partie de l'évolution de la maladie. Les cellules myélomateuses expriment le récepteur CXCR4, et migrent dans des zones de forte expression de SDF1, ligand de ce récepteur, comme la MO. Par ailleurs SDF1 stimule l'activité des métalloprotéases MMP2 et MMP9 dans les cellules myélomateuses, et l'IL-6 diminue l'expression de CXCR4 (**figure 6**). Ces événements vont concourir au développement et à l'infiltration de la MO par les plasmocytes tumoraux (*Epstein, 2001*).

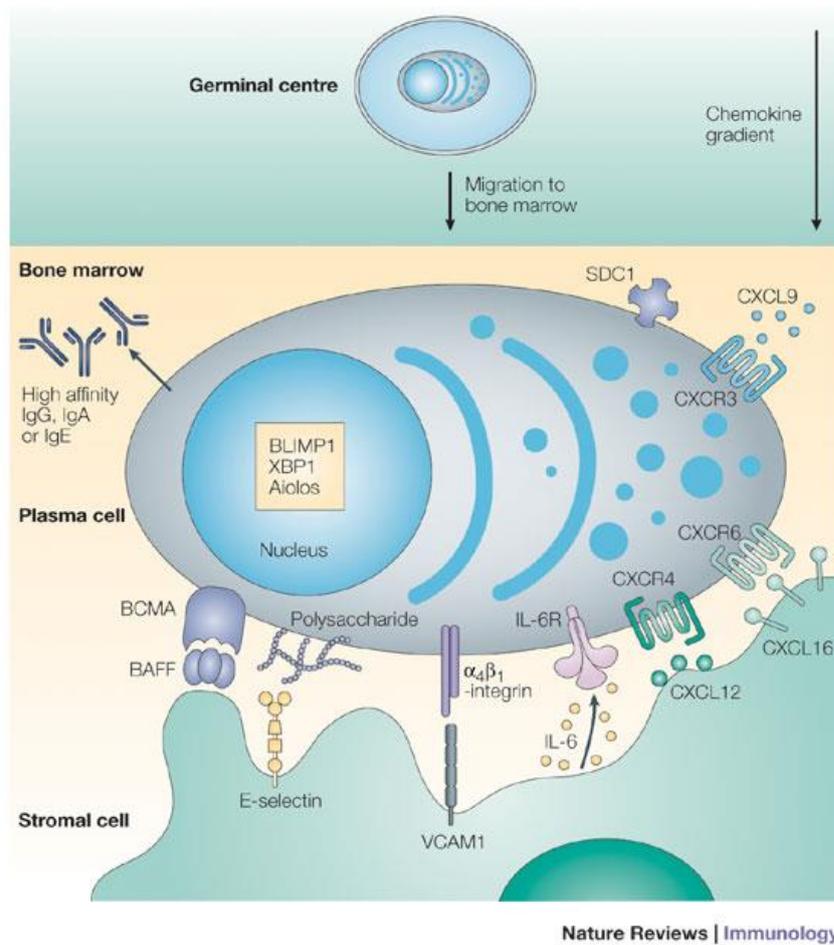


Figure 6 : Homing des cellules plasmocytaires dans la moelle osseuse
(Shapiro-Shelef & Calame, 2005)

Plasma cell : Plasmocyte, Bone marrow : MO, Stroma cell : cellule stromale, E-selectin : endothelial-cell selectin, IL-6R : récepteur de l'IL-6, VCAM-1 : vascular cell-adhesion molecule-1.

5.4.3. Signalisation et microenvironnement médullaire :

Le rôle du microenvironnement médullaire dans le développement de la prolifération des plasmocytes tumoraux est fondamental. Les plasmocytes interagissent avec les cellules stromales fibroblastiques, les cellules ostéoclastiques et également avec les cellules endothéliales. L'adhésion entre ces cellules fait intervenir des intégrines et VCAM-1 (vascular cell-adhesion molecule-1). Ces interactions modifient le comportement des cellules, et induisent par exemple une augmentation de la production de VEGF et d'IL-6, principal facteur de croissance et de survie des plasmocytes tumoraux (Bataille & al, 1989).

- VEGF (Vascular Endothelial cell Growth Factor) :

Le VEGF agit sur les cellules endothéliales, dont il stimule la prolifération, et la production de facteurs de croissance tumorale. Il augmente également la production d'IL-6, d'IL-1 β et de TNF α par les cellules du microenvironnement médullaire, et pourrait directement stimuler les

ostéoclastes (OC) et leurs précurseurs. Le récepteur du VEGF n'est pas exprimé par les plasmocytes tumoraux et agirait de façon paracrine dans le MM (*Bellamy, 2001*).

- FGF (Fibroblast Growth Factor) et FGFR

Les translocations t(4;14) entraînent une augmentation de l'expression du FGFR3. Certaines lignées de plasmocytes expriment les FGFs 2 et 5 qui ont une action pro-angiogénique. Certaines expriment également le FGF9 impliqué dans la prolifération des cellules fibroblastiques (*Kumar & al, 2001*).

- Syndecan-1 ou CD138 :

Le Syndecan-1 est une protéoglycane de la famille des heparanes sulfates. C'est un récepteur de faible affinité pour le FGF2. Il est exprimé par les plasmocytes matures, correspond au CD138, et l'anticorps dirigé contre cette structure est utilisé pour identifier les plasmocytes. Cette protéoglycane peut lier, concentrer et réguler l'activité de facteurs de croissance liant l'héparine, tels que HGF, IL-6, ou FGF2. Le Syndecan-1 est localisé à l'uropode du plasmocyte et est impliqué dans la mobilisation et dans l'agrégation des cellules myélomateuses. Le Syndecan-1 peut être clivé de la surface des plasmocytes et se déposer dans le microenvironnement. Au cours du MM, il s'accumule dans la MO et stimule la croissance des cellules plasmocytaires (*Bayer-Garner & al, 2001*).

5.4.4. Angiogenèse :

La survie et la prolifération des cellules malignes nécessitent une vascularisation importante. Une augmentation de la vascularisation de la MO est observée au cours du MM ; le nombre de microvaisseaux est plus élevé dans la MO des MGUS par rapport à la MO normale, et plus élevé dans la MO de MM par rapport aux MGUS. Il existe une corrélation entre la vascularisation et la masse tumorale ou l'index de prolifération plasmocytaire, et l'hypervascularisation est un facteur de mauvais pronostic. L'augmentation de l'angiogenèse serait liée à la présence des plasmocytes tumoraux qui stimulent la croissance des cellules endothéliales et leur migration en partie par la production de VEGF et de FGFb par les plasmocytes tumoraux. D'autres facteurs pourraient intervenir comme les angioprotéines 1 et 2 (Ang-1 et Ang-2), récemment identifiées dans des lignées de plasmocytes et qui préviendraient l'apoptose des cellules endothéliales (*Harousseau et al, 2004*).

5.4.5. Physiopathologie des lésions osseuses :

L'ostéopathie du MM, responsable des principales manifestations cliniques de la maladie, résulte d'une augmentation de l'activité des OC au contact des plasmocytes tumoraux.

- Mécanismes de la résorption osseuse :

Des études ont mis en évidence une augmentation de l'activité ostéoclastique au contact des cellules myélomateuses. Des ostéoclastes de morphologie normale sont retrouvés en nombre élevé et ont une activité augmentée (*Bataille & al, 1991*), (*Chappard & al, 1991*).

L'hyperrésorption osseuse du myélome n'est pas observée sur les coupes osseuses dépourvues d'invasion plasmocytaire, témoignant du caractère local de ce processus, adjacent aux foyers de cellules myélomateuses. Par ailleurs, cette augmentation de la résorption osseuse est associée à l'infiltration tumorale et corrèle avec la masse tumorale (*Roodman, 1997*), (*Taube & al, 1992*). Ces données suggèrent que les cellules tumorales plasmocytaires stimulent directement le processus de résorption.

Diverses cytokines et chemokines produites par les plasmocytes tumoraux ou par l'environnement médullaire ont été impliquées dans cette hyperrésorption osseuse : IL-6, IL-1, M-CSF ou TNF α/β . Même si l'IL-6 apparaît comme un déterminant majeur dans l'ostéolyse du MM, puissant stimulant des ostéoclastes et facteur de croissance et de survie des cellules tumorales (*Bataille & al, 1992*), aucune des cytokines incriminées ne peut toutefois expliquer à elle seule l'hyperrésorption osseuse responsable des signes cliniques observés chez les malades.

- Le système RANK/RANKL/OPG :

La découverte du système RANK (Receptor Activator of nuclear factor κ B), RANKL (RANK Ligand) et OPG (Ostéoprotégérine) est considérée comme une avancée majeure. Les interactions entre RANKL exprimé par les cellules ostéoblastiques et les cellules stromales, et son récepteur RANK exprimé par les cellules ostéoclastiques ont un rôle crucial dans la différenciation et l'activation des OC. Ce système est complété par l'OPG, puissant facteur inhibiteur de la résorption osseuse, qui bloque l'interaction entre RANKL et RANK.

Dans les pathologies osseuses malignes, la présence de cellules cancéreuses dans le microenvironnement osseux induirait une hyper-expression de RANKL par les cellules stromales/ostéoblastes, ou par les cellules néoplasiques elles-mêmes avec parallèlement une diminution de l'expression d'OPG par ces cellules (**figure 7**). D'où l'augmentation de l'ostéorésorption (*Giuliani & al, 2001*), (*Pearse & al, 2001*), (*Roux & al, 2002*).

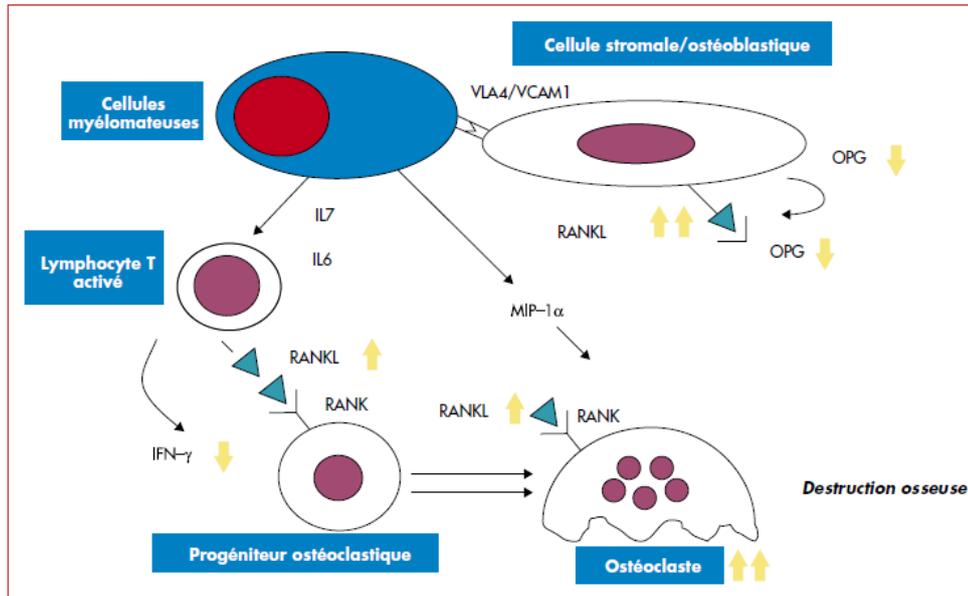


Figure 7 : Mécanismes de l'activité ostéoclastique dans le myélome multiple : rôle du système OPG/RANK/RANKL (N Giuliani, 2008).

5.5. Présentation clinique du myélome multiple :

L'accumulation de plasmocytes malins au niveau de la MO est responsable des principales manifestations du MM, pouvant entraîner :

- La production et la sécrétion d'une Igm dans le sang et/ou les urines ;
- des lésions de l'os environnant la cavité médullaire ;
- une insuffisance médullaire avec anémie et/ou leucopénie et thrombopénie ;
- une immunodépression avec inhibition de la production des Ig normales et sensibilité accrue aux infections.

Un tiers des patients sont asymptomatiques au moment du diagnostic. Dans ces cas, la maladie est découverte de manière fortuite, suite à un bilan biologique de routine avec par exemple la mise en évidence d'un pic à l'EPS lors du bilan d'une autre pathologie (Manier & Leleu, 2011).

5.5.1. Atteinte osseuse :

Les signes osseux sont les plus fréquents, présents chez 70% des patients au diagnostic ou plus tard dans l'histoire de la maladie (The IMWG, 2003), (Kyle et al, 2003). Les lésions ostéolytiques, dont les mécanismes ont été détaillés précédemment (cf paragraphe 5.4.5.), sont une cause majeure de morbidité au cours de l'évolution du MM.

Les douleurs osseuses, d'horaire mixte, intéressent surtout le squelette axial. Elles nécessitent volontiers le recours aux antalgiques de palier III et retentissent sur les capacités fonctionnelles des patients. Les fractures pathologiques sont notées chez un tiers des patients, et les tumeurs osseuses (plasmocytomes) sont possibles (Manier & Leleu, 2011). L'atteinte

osseuse peut se compliquer de compressions neurologiques, médullaires, radiculaires ou tronculaires, secondaires à un tassement vertébral, une épидurite ou un plasmocytome.

Le TDM (tomodensitométrie) ou l'IRM (imagerie par résonance magnétique) sont nécessaires pour évaluer les lésions, même si le bilan radiographique standard est négatif (Kyle & Rajkumar, 2009). La lésion caractéristique est une lacune (ou géode) à l'emporte-pièce de taille variable, sans liseré ostéocondensant périphérique. La localisation préférentielle est située sur la voûte crânienne (**figure 8**), mais on peut également en retrouver sur les os longs, le bassin ou encore le gril costal (Charlot-Lambrecht & al, 2011).



Figure 8 : Radiographie de crâne (profil) (Charlot-Lambrecht & al, 2011)

Multiples géodes à l'emporte-pièce sans liseré condensant en rapport avec des lésions myélomateuses multiples.

5.5.2. Insuffisance rénale :

Elle est présente chez environ 50 % des patients au diagnostic, à des degrés divers. Le recours à l'hémodialyse est requis dans 5 à 10 % des cas (Hutchison et al, 2003).

La cause la plus fréquente reste la tubulopathie myélomateuse (rein myélomateux) (63 à 87 % des atteintes rénales) (Kyle et al, 2003). L'IgM produite en grande quantité par les plasmocytes tumoraux est soit complète, soit formée seulement d'une chaîne légère. Dans les deux cas, la quantité de CLL sériques est anormalement élevée chez les patients atteints de MM. Lorsque ces CLL sériques en quantités excessives atteignent le rein et passent dans les glomérules, la capacité d'absorption des tubules proximaux est dépassée. Dans les tubules distaux, les CLL sériques se lient aux protéines de Tamm-Horsfall, et précipitent sous forme de cylindres (*cf chapitre II, paragraphe 1.3.*).

Les CLL ont également une action tubulotoxique propre responsable d'une atrophie de l'épithélium (Kyle et al, 2003).

Les autres causes sont résumées dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Atteinte rénale et myélome (Manier & Leleu, 2011)

Prérénale (<i>IR fonctionnelle</i>)		Par déshydratation extracellulaire dans un contexte : <ul style="list-style-type: none"> ○ D'hypercalcémie ○ De pertes digestives (vomissements)
Rénale	Tubulaire	<ul style="list-style-type: none"> ○ Tubulopathie myélomateuse (tubes distaux) ○ Nécrose tubulaire aiguë (notamment après utilisation de produits de contraste iodés) ○ Syndrome de Fanconi : traduction clinique d'une atteinte tubulaire proximale (tubulopathie « microcristalline » proximale)
	Glomérulaire	<ul style="list-style-type: none"> ○ Amylose AL ○ Maladie à dépôts monotypiques (de chaînes légères et/ou de chaînes lourdes) non organisés = syndrome de Randall ○ Dépôts organisés non amyloïdes : ces dépôts glomérulaires ont une organisation microtubulaire (glomérulonéphrite immunotactôïde) ○ Atteintes glomérulaires au décours des cryoglobulinémies
Post-rénale		Lithiase (secondaire à une hypercalciurie chronique)

5.5.3. Syndrome infectieux :

Le MM induit un déficit de l'immunité humorale en lien avec une hypogammaglobulinémie, parfois profonde (< 3 g/l), dont la conséquence est l'augmentation du risque d'infections principalement à germes encapsulés, tels que *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*. Les localisations les plus fréquentes sont pulmonaires et urinaires ; ces infections pouvant être septicémiques.

Les infections demeurent la première cause de décès chez les patients atteints de MM, en cause dans 20 à 50 % des cas. Le risque infectieux est majoré par la chimiothérapie quand elle induit des phases neutropéniques ou par les corticoïdes, même en l'absence de neutropénie.

En prévention, une vaccination anti-pneumococcique et anti-*Haemophilus* est recommandée (Manier & Leleu, 2011).

5.5.4. Atteinte neurologique :

Il s'agit le plus souvent d'une atteinte médullaire centrale, le plus souvent par compression liée à une fracture vertébrale mais aussi à une épидурite tumorale ou un plasmocytome. Elle se traduit cliniquement par un syndrome rachidien, un syndrome lésionnel avec radiculaire et d'un syndrome sous-lésionnel (syndrome pyramidal, troubles sensitifs et troubles sphinctériens).

Les atteintes du nerf périphérique ne sont pas à négliger du fait de leur fréquence élevée, de la morbidité qu'elles impliquent et de leur caractère parfois irréversible (Vital, 2001). Le plus souvent, il s'agit d'une polyneuropathie sensitive. D'autres causes de neuropathies

périphériques, cette fois liées à la dysglobulinémie, doivent être évoquées, notamment une amylose AL, une activité cryoglobulinémique ou anticorps anti-nerf de l'Igm. Enfin il est possible d'observer des neuropathies périphériques d'origine métabolique dans le cadre d'une IR chronique (*Manier & Leleu, 2011*).

5.5.5. Risque thromboembolique :

Il est élevé chez les patients atteints de MM et ce pour plusieurs raisons dont la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les plasmocytes tumoraux, la présence d'une Ig aux propriétés prothrombotiques, l'âge souvent élevé des patients, l'utilisation de facteur de croissance érythropoïétiques, une mobilité réduite liée aux complications osseuses et neurologiques, voire la présence d'un syndrome néphrotique chez certains patients. L'utilisation de chimiothérapie telle que les anthracyclines, la dexaméthasone à hautes doses et les IMiDs reste une cause majeure de maladie thromboembolique veineuse ou artérielle dans le myélome (*Palumb & al, 2008*).

5.5.6. Syndrome d'hyperviscosité :

Il se rencontre rarement dans le MM, ce qui s'explique par le fait que l'IgG (monomérique) et l'IgA (dimérique) ont un poids moléculaire (PM) plus faible que l'IgM (pentamérique). Il s'observe lorsque le taux du composant MC sérique est très élevé, plus particulièrement l'IgA, puisque cette molécule a tendance à polymériser. Ses signes cliniques sont neurosensorielles (troubles visuels ou auditifs), neuropsychiques (céphalées, vertiges, convulsions, coma) et hémorragiques (hémorragies au fond d'œil, épistaxis).

5.5.7. L'amylose AL :

Elle survient dans 15% des cas environ. Elle entraîne des manifestations rénales (syndrome néphrotique), cardiaques (insuffisance cardiaque congestive), digestives (macroglossie), neurologique (canal carpien, neuropathies périphériques), hématologiques (déficit acquit en facteur X) (*Charlot-Lambrecht & al, 2011*).

5.6. Exploration immunologique du myélome multiple :

En pratique, en plus du bilan radiographique, diverses analyses biologiques sont recommandées pour le diagnostic. Elles sont également indispensables pour stratifier aisément le pronostic de survie des patients, à l'établissement de la stratégie thérapeutique et au suivi de la pathologie, notamment l'évaluation de la réponse au traitement.

5.6.1. Exploration de l'immunoglobuline monoclonale :

Excepté le MM non sécrétant (pas de production d'Igm détectée), qui représente 2% à 3% des MM (*Chawla & al, 2015*), la prolifération du clone plasmocytaire se traduit par la production en excès d'une Ig MC, dont l'identité immunologique, de charge électrique et de structure est à la base de sa mise en évidence dans le sang et/ou les urines.

5.6.1.1. Analyse du sérum :

■ Dosage des protéines sériques totales :

La protidémie est un examen non spécifique mais d'un intérêt diagnostique en cas d'hyperprotidémie importante. Le dosage se fait par la technique de Biuret. Dans le MM, l'hyperprotidémie peut dépasser 100 g/l, alors qu'une hypoprotidémie est souvent observée dans le myélome à chaînes légères.

■ Électrophorèse des protéines sériques :

Elle permet de révéler un pic MC (présence d'une bande étroite) dans la zone de migration des γ -globulines le plus souvent (**figure 9**), ou en zone des β_2 -globulines, plus rarement en bêta 1-globulines ou en α_2 -globulines.

Cependant, le pic MC est parfois absent ou discret lorsque le composant MC a un PM suffisamment faible pour franchir le filtre glomérulaire rénal. C'est le cas dans 15 à 20% des MM qui ne sécrètent que des CLL (*Greipp et al, 2005 ; The IMWG, 2003 ; Kyle et al, 2003*).

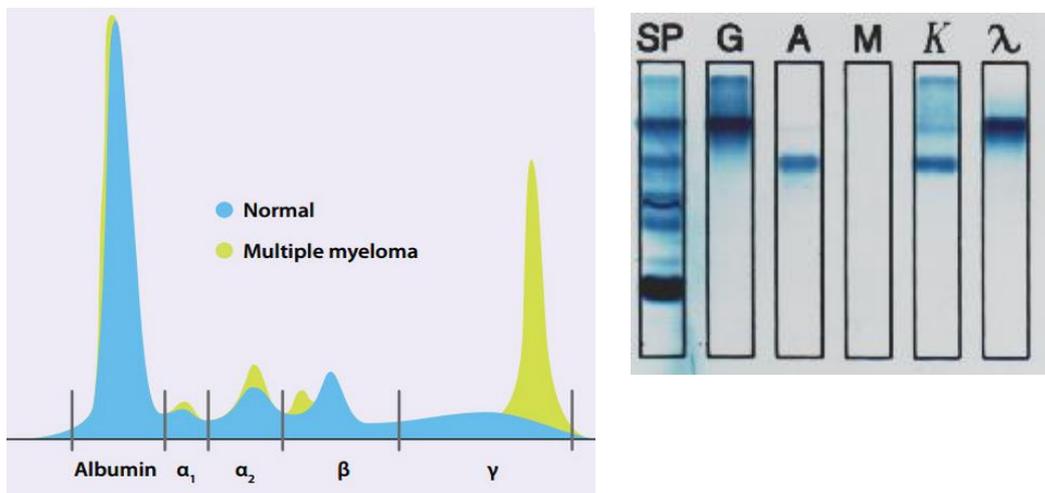


Figure 9 : à gauche EPS chez un patient atteint de MM par rapport à un individu sain, à droite et immunofixation d'un patient atteint de MM.

■ Immunofixation des protéines sériques :

L'IFx est la technique de référence. Elle permet de confirmer la monoclonalité de la bande détectée à l'EPS et d'identifier l'IgM (*cf paragraphe 3.2.1, figure 4*). Contrairement à l'EPS, l'IFx ne permet pas la quantification du composant MC. Les chaînes lourdes sont le plus souvent des chaînes γ : les **MM à IgG** représentent environ 50% des cas. Dans 20% des cas, c'est une chaîne lourde α (**MM à IgA**). Plus rarement, il s'agit d'une chaîne μ (**MM à IgM**), δ (**MM à IgD**, 1 à 2% des cas) ou exceptionnellement ϵ (**MM à IgE**). Les chaînes légères sont de type κ_L dans environ deux tiers des cas et λ_L dans environ un tiers des cas (*The IMWG, 2003 ; Kyle et al, 2003*).

5.6.1.2. Analyse des urines :

Cette recherche est d'une importance majeure lors du diagnostic du MM à chaînes légères, car le pic est souvent absent à l'EPS.

5.6.2. Autres paramètres :

■ Créatininémie :

L'élévation de la créatininémie est un aspect biologique commun reflétant l'atteinte rénale dans le MM. Elle est supérieure à 20mg/l (175 μ mol/l) dans 20% des cas au diagnostic (*Kyle & al, 2003*). La créatininémie est également un facteur pronostic important, ainsi que pour le suivi sous traitement (monitoring).

■ hypercalcémie :

L'hypercalcémie (supérieure à 110mg/l) est une circonstance de diagnostic de MM dans 15% des cas (*Kyle & al, 2003*). Elle n'est pas un critère de mauvais pronostic en soit, mais induit une déshydratation par syndrome polyuropolydipsique, puis l'apparition d'une IR. Plusieurs mécanismes en expliquent la survenue. Le principal est l'hyperostéoclastose induite localement par les cellules myélomateuses. À moindre mesure, la baisse du débit de filtration glomérulaire et l'augmentation de la résorption tubulaire du calcium ainsi que la diminution de l'activité ostéoblastique participent aussi à la survenue de l'hypercalcémie (*Manier & Leleu, 2011*).

■ La vitesse de sédimentation :

La vitesse de sédimentation (VS) est accélérée, sans syndrome inflammatoire, dans la majorité des cas de MM, supérieure à 20 mm à la première heure et souvent supérieure à 100 mm (*Kyle et al, 2003*). Lorsqu'il s'agit d'un MM à chaînes légères ou d'un MM non sécrétant, la VS est normale, puisque son accélération reflète une hyperprotidémie.

■ Protéine C réactive :

Même si la protéine C réactive (CRP) n'est pas un marqueur spécifique de l'activité du MM, elle est augmentée au même titre que l'IL-6. En effet, la synthèse de la CRP est stimulée par l'IL-6, facteur de croissance essentiel de la prolifération des cellules myélomateuses, et est produite en grande quantité par le microenvironnement tumoral et par les plasmocytes eux-mêmes.

■ β 2-microglobuline sérique :

La β 2-microglobuline (β 2m) sérique a été démontré à plusieurs reprises comme ayant une valeur pronostique propre dans le MM (*Jacobson & al, 2003*). C'est un marqueur de la prolifération lymphoplasmocytaire. Il reflète l'importance de la masse tumorale. Néanmoins, son élévation doit toujours être interprétée en fonction de l'état de la fonction rénale.

■ Lactate deshydrogénase :

La LDH (lactate deshydrogénases) compte parmi les facteurs pronostics importants du MM. Son augmentation signe le caractère prolifératif de la pathologie tumorale (*Dimopoulos & al, 1991*).

5.6.3. Hémogramme :

La prolifération plasmocytaire conduit à une altération de l'hémogramme à travers divers paramètres.

Le syndrome anémique est le plus fréquent, présent comme symptôme majeur chez près de 70% des patients au diagnostic (Kyle & al, 2003). Il s'agit d'une anémie (hémoglobine inférieure à 12 g/dl) normochrome normocytaire arégénérative. L'anémie est généralement modérée, seuls 7% des cas avait un taux d'hémoglobine inférieur ou égal à 8 g/dl (Kyle & al, 2003).

Les causes en sont multiples, parmi lesquelles une insuffisance de production de la lignée érythrocytaire due à l'envahissement médullaire par les plasmocytes tumoraux, une inhibition de l'érythropoïèse induite par les cytokines (TNF et IL-1), un phénomène d'hémodilution lié à l'hyperprotidémie et la diminution de sécrétion d'érythropoïétine (EPO) en cas d'IR (Baraldi-Junkins & al, 2000), (Silvestris & al, 2002).

Il existe aussi, à moindre degré, des thrombopénies (taux de plaquettes $<100\ 000 / \text{mm}^3$) sont présentes chez 5% des patients au diagnostic (Kyle & al, 2003). Les neutropénies sont rares.

Une leucémie à plasmocytes (PCL, plasma cell leukemia) de novo (primitive) fut observée dans 2% des MM au diagnostic. Elle est définie lorsque les plasmocytes représentent 20% des cellules sanguines. On parle de PCL secondaire lorsque cette plasmocytose apparait au cours de l'évolution du MM (Kyle & al, 2003). La leucémie à plasmocytes réalise un tableau clinique et hématologique gravissime.

Une formation en rouleaux des hématies est observée sur le frottis sanguin. Elle est due à la présence en excès de l'Igm (Kyle & al, 2003).

5.6.4. Examen de la moelle osseuse :

L'évaluation quantitative et qualitative de la plasmocytose médullaire représente une étape décisive de la démarche diagnostique d'un MM (Grogan & al, 2003). Il est toutefois indispensable de confronter les résultats de l'examen médullaire avec les données des autres investigations cliniques et biologiques.

La moelle est prélevée par ponction sternale ou, de préférence à la crête iliaque, ce qui permet d'obtenir dans un même temps du matériel d'aspiration pour frottis (examen cytologique) et un cylindre de biopsie (examen histologique). Elle est ensuite colorée au MGG et observé au microscope. Ces deux techniques, aspiration et biopsie, sont complémentaires, car la distribution de la plasmocytose dans la MO est souvent hétérogène (Bain & al, 2001). La biopsie ostéomédullaire n'est pas systématique, elle n'est réalisée que si le doute persiste après réalisation du myélogramme par ponction. La biopsie est cependant indispensable lors de MM à moelle fibreuse et notamment lors de MM ostéosclérosant ; dans ces situations, l'aspiration de moelle est le plus souvent insuffisante.

A l'état physiologique, les plasmocytes représentent moins de 0,5% des éléments nucléés. Dans le MM, la plasmocytose est élevée, **supérieure à 10%** chez 96% des patients au diagnostic (Kyle & al, 2003).

La morphologie des plasmocytes tumoraux est très variable (**figure 10**) : les plasmocytes néoplasiques peuvent être typiques, bien différenciés, ou atypiques. La variété

plasmoblastique, très peu différenciée (rapport nucléo-cytoplasmique élevé, chromatine fine, nucléole apparent) est rare et de mauvais pronostic ; elle survient parfois d'emblée, mais représente souvent une transformation d'un MM connu en une variété plus agressive.

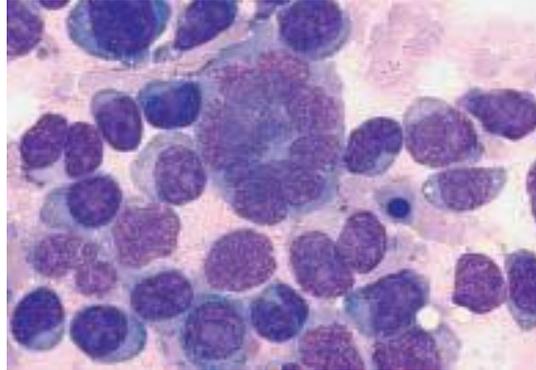


Figure 10 : Aspect morphologique des cellules plasmocytaires dans leurs différents stades de maturation

5.6.5. Cytogénétique :

Le développement récent de la technique FISH sur cellules interphasiques a rendu possible l'analyse de cellules plasmocytaires non proliférantes. La principale conséquence pratique de la recherche de ces anomalies chromosomiques est l'implication pronostique.

Alors que le poids pronostique des anomalies chromosomiques est parfaitement démontré dans la plupart des hémopathies malignes aiguës, leur impact dans le MM est de démonstration récente. Ces analyses sont rendues difficiles dans le MM en raison de l'infiltrat partiel de la MO par les plasmocytes malins, ainsi que par leur faible index de prolifération. Ces analyses ne peuvent donc être pratiquées que grâce à des techniques ne reposant pas sur l'obtention de métaphases. La FISH interphasique est à ce titre l'outil idéal.

Ainsi, les translocations $t(4;14)$, $t(14;16)$ et la délétion du bras court du chromosome 17 sont associées à un mauvais pronostic avec une survie significativement plus courte (Decaux & al, 2007).

5.7. Diagnostic :

Le MM étant de présentation hétérogène, sa prise en charge est multidisciplinaire. Elle nécessite la participation de nombreux acteurs, qu'ils soient immunologistes, hématologues, oncologues, rhumatologues, néphrologues ou radiologues. La découverte peut aussi être fortuite, à la suite d'un pic à l'EPS ou d'une VS très élevée.

5.7.1. Critères diagnostiques :

Lors du diagnostic du MM, l'association de certains examens cliniques et biologiques est indispensable pour étayer le diagnostic. Ce processus diagnostique a pour but de distinguer MGUS, MM indolent (asymptomatique), MM symptomatique, amylose à chaînes légères et plasmocytome solitaire.

En 2014, l'IMWG a mis à jour les critères diagnostiques internationaux consensuels du MM (*Rajkumar & al, 2014 ; The IMWG, 2014*). Ils sont détaillés ci-dessous et résumés dans le tableau 1 en annexe de ce mémoire (**annexe 1**).

Le diagnostic du MM repose sur :

- 1) La mise en évidence d'une **plasmocytose médullaire supérieure à 10 %** des cellules nucléés de la MO à l'examen du myélogramme, ou d'un plasmocytome par biopsie.
- 2) La présence d'au moins une atteinte organique liée à la prolifération plasmocytaire sous-jacente. Elles sont appelées les critères CRAB :
 - C pour hypercalcémie (≥ 115 mg/L ou $\geq 2,65$ mmol/L)
 - R pour insuffisance rénale (créatininémie > 173 μ mol/L ou > 20 mg/L) ;
 - A pour **an**émie normocytaire normochrome (taux d'hémoglobine < 10 g/dL ou plus de 2 g/dL en dessous de la limite inférieure de la normale) ;
 - B pour lésions osseuses (**b**one lesions) (au moins une lésion lytique, ostéopénie sévère ou fracture pathologique).

La principale modification concernant la dernière mise à jour des critères diagnostique de l'IMWG est l'addition de 3 paramètres biologiques hautement spécifiques, en plus des critères du CRAB préexistant, à savoir :

- Une plasmocytose médullaire supérieure à 60% ;
- Un rapport des CLL sériques κ/λ (sFLC ration) ≥ 100 ;
- La présence de plus d'une lésion localisée à l'IRM.

Ces nouveaux critères représentent un changement fondamental car ils permettent un diagnostic précoce et l'initiation d'un traitement avant l'apparition d'une atteinte organique (*Rajkumar & al, 2014 ; The IMWG, 2014*).

5.7.2. Diagnostic différentiel :

- **Gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS)** : Il s'agit d'une prolifération MC stable (< 30 g/l), asymptomatique (absence d'atteinte organique), de plasmocytes tumoraux dans la MO ($< 10\%$). Elle correspond à un état pré-tumoral stable pouvant se transformer en MM (environ 1% des cas par an) (*Kyle & al, 2002*). Les critères diagnostiques de MGUS sont résumés dans le tableau 1 (**annexe 1**).
- **MM indolent (asymptomatique)** : se caractérise par une prolifération MC supérieure à 30g/l, une plasmocytose médullaire supérieure à 10%, mais aucun critère du CRAB. Le risque de transformation est plus élevé par rapport au MGUS, d'environ 10% par an (*Kyle & al, 2007*).
- **Plasmocytome solitaire** : tumeur plasmocytaire solitaire ou multiple, osseuse ou extra-osseuse (tissus mous), associée ou non aux mêmes anomalies biologiques que dans le MM (plasmocytome sécrétant). Il n'existe pas d'infiltration médullaire et le diagnostic repose sur la biopsie de la lésion. L'évolution vers le MM est fréquente, dans les cinq ans en moyenne (*Dingli & al, 2006*).

- **POEMS syndrome** : caractérisé par la combinaison d'une polyneuropathie sensitivomotrice, d'une organomégalie (hépatosplénomégalie), d'une atteinte endocrinienne, de la présence d'un composant MC (IgA ou IgG et de chaînes légères λ_L) et d'une atteinte cutanée (*Dispenzieri, 2007*). Les lésions osseuses sont quasi constantes, sous forme de plasmocytomes.
- **Amylose AL primaire** : dépôt dans les tissus d'une substance protéique fibrillaire constituée en partie de chaînes légères d'Igm, de type λ_L dans deux tiers des cas. Elle apparait dans environ 15% des cas de MM (*Gertz & al, 2005*). Elle peut toucher tous les organes, principalement le rein.

5.8. Critères pronostiques :

La durée médiane de survie globale pour le MM est de 3 à 4 ans. Néanmoins, l'évolution de la maladie est très variable d'un patient à l'autre, avec une survie allant de moins de 6 mois à plus de 10 ans. Cette variabilité est due à l'hétérogénéité de la pathologie, de la biologie des cellules myéломateuses ainsi qu'aux multiples facteurs associés à l'hôte. La connaissance des facteurs pronostics liés à la tumeur et au patient est indispensable pour prédire l'évolution de la maladie, identifier les patients à risque et optimiser la prise en charge.

5.8.1. Classification de Durie et Salmon :

La classification de Durie et Salmon a été développée il y a plus de 30 ans comme moyen fiable, simple et pratique d'apprécier la masse tumorale dans le MM (*Durie & Salmon, 1975*). Elle est basée sur des critères cliniques (évaluation radiologique des lésions osseuses) et des paramètres biologiques courants (taux sérique ou urinaire du composant MC, valeurs de l'hémoglobine et de la calcémie, créatinémie). Les patients sont ainsi classés en trois catégories selon l'importance de la masse tumorale, et la fonction rénale définit des sous-groupes à faible ou haut risque (**tableau 4**).

Tableau 4 : Classification selon Durie & Salmon, 1975

Stade I	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Absence d'anémie significative (Hb \geq100 g/l) ▪ Absence d'hypercalcémie (Ca⁺⁺ \leq3 mmol/l) ▪ Radiographies normales ou ne montrant qu'un plasmocytome unique ▪ Composant MC: IgA \leq30 g/l, IgG \leq50 g/l, Bence-Jones \leq4 g/24h.
Stade II	Stade intermédiaire entre I et II
Stade III	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Anémie \leq85 g/l ▪ Hypercalcémie \geq3 mmol/l ▪ Radiographies montrant de multiples lésions lytiques osseuses ▪ Composant MC: IgA $>$50 g/l, IgG $>$70 g/l, Bence-Jones $>$12 g/24h.
Le stade selon Durie & Salmon est libellé A ou B (B si créatinine sérique $>$ 177 μ mol/l).	

Cette classification a été largement adoptée comme système de classification standard du MM.

Cependant, elle présente plusieurs points faibles, parmi lesquelles une détermination souvent imprécise et subjective des lésions osseuses. De plus, sa valeur pronostique est finalement inférieure à celle de la $\beta 2m$ et des anomalies cytogénétiques. Elle n'est plus utilisée à ce jour que lorsque l'on se rapporte aux séries « historiques » publiées dans la littérature.

5.8.2. International staging system :

Récemment, un nouvel indice pronostique international a été établi. Il s'agit de l'ISS (International Staging System), basé sur la combinaison de deux paramètres biologiques prédictifs de la durée de survie, facilement disponibles et évaluables de façon simple et reproductible : la $\beta 2m$ sérique et l'albuminémie. Il en résulte une classification en trois stades (Greipp et al, 2005) (tableau 5).

Tableau 5 : International Staging System (ISS) (d'après Greipp et al, 2005).

Stade	Définition	Survie médiane
I	$\beta 2m < 3,5$ mg/L et albumine ≥ 35 g/L	62
II	Ni stade I, ni stade III	44
III	$\beta 2m \geq 5,5$ mg/L	29

Cette nouvelle classification a été validée et son utilisation est aujourd'hui recommandée pour l'évaluation du pronostic dans le MM, selon les critères de consensus internationaux (Greipp et al, 2005 ; Kyle & Rajkumar, 2009).

Néanmoins, plusieurs inconvénients limitent son utilisation. En effet, l'ISS n'intègre pas la cytogénétique et n'a pas été validé dans le contexte des nouvelles thérapeutiques. Notons aussi que le stade ISSIII est un groupe hétérogène de patients qui n'ont en commun que l'élévation de la $\beta 2m$ sérique, ce qui peut être liée à une masse tumorale importante comme à une IR.

5.8.3. Classifications cytogénétiques et moléculaires :

Bien que l'application pratique de la cytogénétique soit handicapée par un manque de standardisation des techniques, des coûts élevés et une disponibilité restreinte aux centres de référence dans le cadre de protocoles de recherche, de plus en plus de données sont disponibles dans ce domaine et ont été très étudiées au cours de ces dernières années. Elles ont permis de différencier plusieurs sous-groupes pronostics de MM.

Une première classification génétique, basée sur la ploïdie, identifie grossièrement une catégorie de patients avec un pronostic favorable (hyperdiploïdes) et une catégorie de patients avec un pronostic défavorable (non hyperdiploïdes) (Fonseca et al, 2004 ; Wuilleme et al, 2005).

Barille-Nion et al. ont proposé une classification moléculaire du MM, appelée « TC » car basée sur les translocations **IgH** et l'expression de Cycline D (*Barille-Nion et al, 2003*). Cette classification identifie cinq groupes moléculaires de MM, avec des implications pronostiques et thérapeutiques importantes. Elle reste cependant à valider par d'autres études.

Sur la base de ces données, les groupes d'étude du MM comme l'IMWG cherchent à développer un système de classification plus raffiné que l'ISS pour identifier les patients à « haut risque » parmi ceux ayant un mauvais pronostic. En fait, l'introduction de la cytogénétique permettrait d'améliorer la prédiction de la survie dans chaque catégorie de l'ISS (*Avet-Loiseau et al, 2007*).

5.9. Prise en charge thérapeutique :

5.9.1. Traitement anti-tumoral :

5.9.1.1. Indications :

Il est admis qu'il n'y a pas d'indication à instituer une chimiothérapie anti-tumorale chez les patients asymptomatiques à faible masse tumorale : ce sont les MM indolents (stade I de la classification de Durie et Salmon), qui peuvent rester stables plusieurs années. En pratique donc, seuls les patients présentant un myélome évolutif (présence de lésions osseuses, IR, anémie, hypercalcémie...) bénéficient d'un traitement anti-tumoral.

Notons bien que le stade ISS ne change rien à la décision thérapeutique.

5.9.1.2. Thérapeutiques disponibles :

▪ Alkylant et corticoïdes :

Le traitement de référence du MM tout âge confondu est resté, pendant de nombreuses années, l'association d'un alkylant (melphlan, Alkeran® ou cyclophosphamide, Endoxan®) et de glucocorticoïdes (prednisone, dexaméthasone), dite « Alexanian ». Cette association permet d'espérer une survie médiane de l'ordre de 3 ans (*Kyle & al, 2003*).

▪ Intensification-autogreffe :

Jusqu'à la fin des années 1990, il n'y a eu aucun progrès significatif dans le traitement du MM, avant l'avènement de l'intensification suivie de l'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) (principe de l'intensité-dose) (*Harousseau & al, 2004*). Il s'agit d'une réduction de la masse tumorale par une chimiothérapie d'induction (« VAD », vincristine, adriamycine, dexaméthasone) puis une intensification thérapeutique (conditionnement myéloablatif) par de fortes doses de melphalan, suivie de la greffe de CSH autologues prélevées au préalable. Cette modalité thérapeutique a permis d'améliorer significativement le taux de rémission complète et la médiane de survie (supérieure à 50 mois).

Cependant, l'analyse des courbes de survie sans rechute montre qu'il n'apparaît pas de plateau pouvant suggérer la guérison d'une partie des patients.

▪ **Allogreffe :**

L'allogreffe de CSH a été proposée comme traitement du MM. Cette approche est séduisante car il existerait un effet «greffon contre myélome». Mais cette procédure nécessite l'obtention d'une rémission et est grevée d'une morbidité et d'une mortalité importante. La diminution de l'intensité du conditionnement par des « mini-allogreffes » pourrait diminuer la morbidité et participer à l'allongement de l'espérance de vie des patients (*Barille-Nion et al, 2003 ; Harousseau et al, 2004 ; Hulin, 2007*).

▪ « **Nouvelles** » **molécules :**

Depuis une dizaine d'années, le paysage thérapeutique s'est enrichi de 3 nouveaux principes actifs, appartenant à deux nouvelles classes médicamenteuses avec de nouveaux mécanismes d'action, qui ont bouleversé la prise en charge thérapeutiques du MM (*Hulin, 2007*).

- **La thalidomide** fait partie de la classe des immunomodulateurs. C'est la mise en évidence d'une activité anti-angiogénique qui constitue le rationnel de son utilisation dans le traitement du MM, mais la thalidomide agit selon des mécanismes divers. Les effets toxiques principaux sont la neuropathie périphérique (toxicité cumulative) et les thromboses veineuses.

- **Le lénalidomide** (Revlimid[®]) est un analogue structural de la thalidomide avec un profil de toxicité différent : sa toxicité principale est hématologique et il n'est pas responsable d'effets secondaires neurologiques.

- **Le bortézomib** (Velcade[®]) est le premier inhibiteur du protéasome. Il réduit la prolifération ainsi que la survie des cellules malignes en bloquant leur progression dans le cycle cellulaire et en restaurant l'apoptose. L'activité « anti-myélome » est aussi médiée par l'inhibition de la production d'IL-6 par les cellules stromales médullaires. Les effets toxiques majeurs sont la fatigue et la neuropathie périphérique.

5.9.2. Critères de réponse :

Le traitement optimal du MM est évolutif, en fonction d'essais thérapeutiques qui se succèdent actuellement rapidement. Pour pouvoir comparer l'efficacité des nouvelles stratégies thérapeutiques dans les essais cliniques, il est indispensable de disposer de critères de réponse validés et reproductibles. C'est aussi un besoin en clinique «de routine» pour évaluer la réponse au traitement directement au niveau individuel du patient. En outre, étant donné l'efficacité des nouveaux agents disponibles, il devient nécessaire d'évaluer la «magnitude» de la réponse obtenue. Enfin, il est important de pouvoir détecter la rechute le plus précocement possible.

Pour répondre à ces attentes, l'IMWG a récemment redéfini les critères d'évaluation de réponse (et de rechute) dans le MM (*Durie et al, 2006 ; Kyle & Rajkumar, 2009*). Cinq catégories de réponse et trois catégories de rechute sont proposées : réponse complète stricte RCs (stringent complete response, **sCR**), réponse complète RC (complete response, **CR**), très bonne réponse partielle TBRP (very good partial response, **VGPR**), réponse partielle RP (partial response, **PR**) et maladie stable MS (stable disease, **SD**), maladie progressive MP (progressive disease, **PD**), rechute clinique et rechute à partir d'une R

6. Autres gammopathies monoclonales :

6.1. La macroglobulinémie de Waldenström :

La macroglobulinémie de Waldenström est une hémopathie lymphoïde chronique touchant la cellule B, Selon le système de classification de l’OMS ; elle correspond à un lymphome lymphoplasmocytaire caractérisé par l’association d’une IgM MC et des infiltrations de lymphocytes à différents stades de maturation allant du petit lymphocyte au plasmocyte (*Vijay & Gertz 2007*). La prolifération clonale prédomine dans la moelle mais peut aussi atteindre le foie, la rate et les ganglions lymphatiques.

Les manifestations cliniques sont de deux ordres : certaines liées à l’infiltration médullaire et représentées essentiellement par un syndrome tumoral (adénopathie, splénomégalie et hépatomégalie), d’autres liées aux propriétés physicochimiques et antigéniques de l’IgM : syndrome d’hyperviscosité, syndrome hémorragique, anémie, maladies des agglutinines froides, amylose et neuropathie périphérique.

6.2. Amylose AL :

Amylose AL ou amylose primitive est une GM résultant d’une prolifération MC plasmocytaire caractérisée par la production excessive de chaînes légères MC entières ou tronquées qui ont la particularité de résister à la protéolyse et de former des dépôts de filaments insolubles au niveau intratissulaires et extracellulaires des divers organes, entraînant ainsi leur dysfonctionnement .

Les chaînes légères responsables des amyloses AL sont deux fois plus souvent d’isotype λ_L que κ_L (*McCelroy et al, 1998*). L’amylose AL est peut s’agir d’une des complications les plus sévères des proliférations plasmocytaires MC, telle que le MM ou la MGW, mais plus souvent d’une situation en apparence primitive (*Kyle et al, 1995*).

Les signes cliniques sont polymorphes pratiquement tous les organes peuvent être touché sauf le système nerveux central. L’infiltration et les dépôts des CLL au niveau des organes ont pour conséquence le développement d’atteinte rénal, de cardiomyopathies, de neuropathies périphériques ou d’hépatosplénomégalie.

6.3. Maladie des chaînes lourdes :

La maladie des chaînes lourdes (MCL) est une hémopathie peu fréquente qui correspond à des syndromes lymphoprolifératifs B. Elle est caractérisée par la production d’une Igm incomplète constituée de chaînes lourdes délitées souvent au niveau du premier domaine constant, sans chaînes légères (*Fermound & Brouet, 1999*).

On distingue trois variantes de maladie de chaînes lourdes correspondant aux 3 principales classes d’Ig secrétées et connues par ordre de fréquence :

- Maladie de chaîne lourde α : IgA

Également appelée lymphome méditerranéen, est la plus fréquente des MCL : caractérisée par une prolifération lymphoplasmocytaire à IgA toujours de sous-classe a1 infiltrant la totalité de l’intestin grêle et des ganglions mésentériques.

Cette maladie se présente sous deux formes cliniques principales : La forme digestive la plus fréquente c'est l'expression d'un syndrome de malabsorption et d'une entéropathie exsudative, et la forme respiratoire qui reste très rare.

- Maladie de chaîne lourde γ : IgG

L'aspect clinique de la maladie se caractérise par une grande hétérogénéité. Elle se présente comme une prolifération plasmocytaire avec quelques plasmocytes touchant la moelle et fréquemment les ganglions, une hépatosplénomégalie est également possible, la survenue de manifestations auto-immunes est fréquente lors de cette maladie : polyarthrite, hémolyse auto-immune.

- Maladie de chaîne lourde μ : IgM

La rare maladie des chaînes μ est à évoquer devant un tableau de leucémie lymphoïde chronique avec présence de plasmocytes vacuolés sur le myélogramme.

6.4. Syndrome POEMS :

L'acronyme POEMS désigne un syndrome caractérisé par l'association d'une prolifération plasmocytaire. Le plus souvent un plasmocytome solitaire et d'une neuropathie périphérique (P pour polyneuropathy). Le ou les plasmocytes ont deux particularités : ils sécrètent une IgM d'isotype IgG ou IgA qui porte quasi toujours des chaînes légères λ_L , ils s'accompagnent de lésions osseuses non pas lytiques mais au moins en partie condansantes. le syndrome peut s'enrichir d'autres manifestations dont organomégalie (O), des signes endocriniens variés (E pour endocrinopathy) et des signes cutanés (S pour skin manifestations).

6.5. Les leucémies :

- Les leucémies à plasmocytes :

Les leucémies à plasmocytes réalise un tableau clinique et hématologique gravissime, la présentation clinique est proche de celle d'une leucémie aigüe avec anémie thrombopénie et une plasmocytose sanguine supérieure à $2.10^9/l$ pouvant être la forme d'évolution terminale d'un MM (leucémie à plasmocytes secondaire) ou survenir de novo (leucémie à plasmocytes primitive).

Il existe de nombreuses autres affections malignes au cours desquelles un pic MC, qu'il soit de nature IgG, IgM ou IgA, peut être découvert. Nous pouvons citer notamment : la leucémie lymphoïde chronique, les lymphomes non hodgkiniens, la leucémie myélonormocytaire chronique, ainsi que certaines myélodysplasies. Une IgM MC en générale de faible concentration peut accompagner une leucémie lymphoïde chronique ou un lymphome non hodgkinien d'histologie diverse certains types de lymphome non hodgkinien sont plus fréquemment en cause, notamment les lymphomes de Burkitt et les lymphomes de MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) et de la zone marginale. L'observation d'une IgG voire d'une IgA ou des CLL isolées est également possible.

Chapitre II

Les chaînes légères libres des immunoglobulines

1. Physiologie des chaînes légères :

1.1. Structure :

Les chaînes légères libres sont de deux types κ et λ , chacune étant constituée d'une seule chaîne polypeptidique d'environ 220 AA, repliée pour former deux domaines distincts : un variable N-terminal et un constant C-terminal.

Quatre sous-groupes κ ($V\kappa 1-V\kappa 4$) et six sous-groupes λ ($V\lambda 1-V\lambda 6$) peuvent être identifiés en utilisant des anticorps monoclonaux. Les structures spécifiques de sous-groupes influencent le potentiel de polymérisation des CLL (*Bradwell, 2006*).

Les CLL κ (PM = 25 kDa) sont de façon prédominante à l'état de monomères alors que les CLL λ se présentent sous forme de dimères (PM = 50 kDa) voire de multimères (*Bidet, Marit & Bérard, 2008*).

1.2. Biosynthèse :

La production des CLL par les plasmocytes de la MO et par les autres cellules de la lignée B (cellules lymphoplasmocytaires, lymphocytes naïfs, activés et mémoire), évaluée à environ 500 mg par 24h, est excédentaire d'environ 40 % à celle des chaînes lourdes, ceci pour permettre l'assemblage correct des Ig intactes (*Guenet & al 2007*).

Chaque clone lymphocytaire assure la synthèse d'un seul type de CLL κ ou λ , La production journalière de CLL κ est le double de celle des CLL λ (*Bidet, Marit & Bérard, 2008*).

1.3. Catabolisme et clairance :

Le rein représente l'organe principal de filtration et de catabolisme des CLL dont la majorité (95%) est filtrée passivement par le glomérule.

Le mécanisme de filtration glomérulaire est d'autant plus rapide que le degré de polymérisation est faible. Ceci explique la différence de la clairance entre les CLL λ et κ : en effet le faible degré de polymérisation des CLL κ fait qu'elles sont éliminées 2 à 3 fois plus rapidement que les CLL λ , Avec une demi-vie de deux à quatre heures pour les CLL κ , et de trois à six heures pour les CLL λ par conséquent la concentration sérique des CLL κ est plus basse à celle des λ malgré que la production de ces dernières est deux fois moins importante (*Gordon & al ; Waller & al, 1978*).

Les CLL filtrées par le glomérule sont ensuite réabsorbées et catabolisées au niveau du tubule proximal, Avec une capacité de réabsorption des protéines de 10 à 30 g/j (*Bradwell, 2006*) ; Ce mécanisme a pour but de limiter la perte de protéines de faible masse moléculaire, et donc d'AA, dans les urines (**figure 11**).

Dans le tubule proximal, les CLL sont reconnues par le couple mégaline-cubuline (récepteurs de surface des cellules épithéliales), les complexes CLL- récepteurs sont internalisés pour que les CLL soient ensuite dégradées au niveau des lysosomes.

En dehors de toute pathologie, la présence de traces de CLL (1 à 10 mg) dans les urines résulte non pas de la filtration glomérulaire mais probablement d'une sécrétion tubulaire distale, et éventuellement urétrale (Bradwell, 2006).

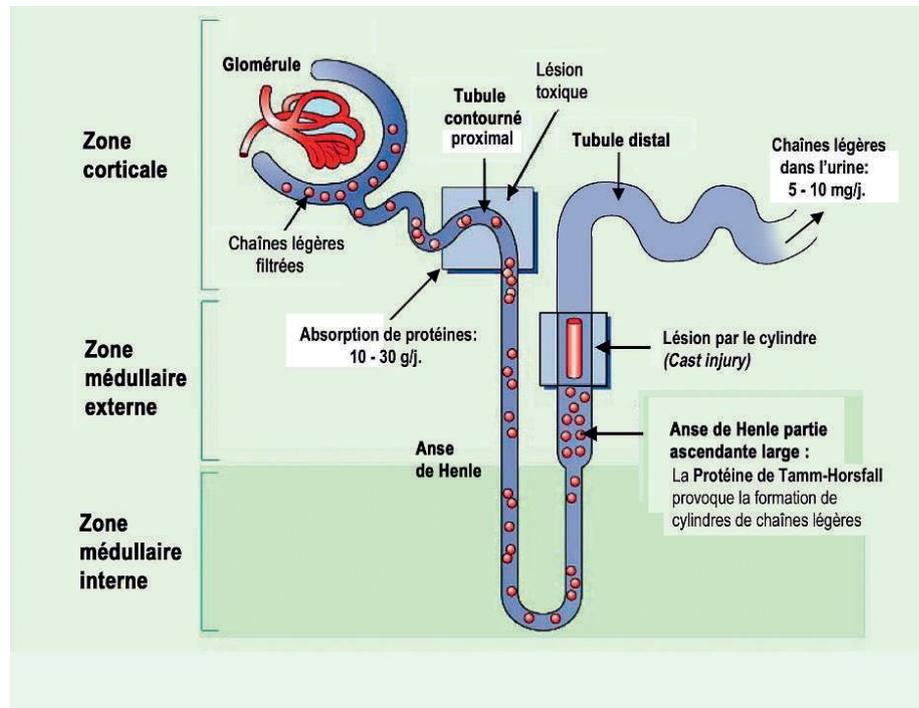


Figure 11 : Schéma montrant la filtration, le métabolisme et l'excrétion des CLL.
(Johnson & Feehally, 2003)

2. Méthodes d'étude des chaînes légères libres :

2.1. L'Electrophorèse :

A l'EPS ou à l'EPU, la présence d'un composant MC sera suspectée devant la présence d'un pic (bande étroite) d'aspect MC toutefois dans le cadre d'une recherche de CLL. Cette technique peut être mise en défaut du fait du faible taux de CLL, de leur caractéristique de migration et de leur capacité à lier d'autres protéines.

2.2. L'immunofixation :

L'IFx est une technique plus sensible permettant à la fois de caractériser (préciser l'isotype de CLL) et de confirmer le caractère MC de l'anomalie décelée (ou non) à l'électrophorèse. Pour caractériser le caractère libre des chaînes légères, il est indispensable de réaliser l'IFx avec un immun-sérum capable de réagir avec les chaînes légères totales liées et libres et avec un autre immun-sérum capable de ne réagir qu'avec les CLL (l'immun-sérum réagit alors avec un épitope qui n'est accessible que lorsque la chaîne légère est libre) ; l'immun-sérum anti-chaînes légères totales étant plus sensible que l'immun-sérum anti-CLL.

L'IFx urinaire peut être effectuée sur des urines concentrées ce qui permet d'augmenter la sensibilité de la technique lorsque le taux de CLL urinaires est très faible.

2.3. Dosage des chaînes légères libres (Freelite®) :

Depuis 2001, une méthode immunologique automatisée (Freelite®) de dosage des CLL κ et λ est disponible (Bradwell, 2006).

La technique Freelite® permet le dosage des CLL dans le sérum ou les urines, par immunonéphélométrie ou immunoturbidimétrie. Elle est adaptable sur différents automates de laboratoire. Elle utilise des anticorps polyclonaux monospécifiques des CLL κ ou λ adsorbés sur des particules de latex. La spécificité des anticorps vis-à-vis des formes libres des chaînes légères est obtenue grâce à l'utilisation pour la production d'anticorps des déterminants antigéniques cachés dans la molécule d'Ig complète, mais exposés dans le cas des CLL (figure 12).

Des CLL κ ou λ purifiées à partir d'urine de patients présentant une PBJ ont été utilisées pour immuniser des moutons, les immunosérums obtenus ont été absorbés sur des colonnes couplées à des Ig intactes (IgG, IgA et IgM) afin d'éliminer les anticorps spécifiques des chaînes légères liées et ceux des isotypes des chaînes lourdes. Dans une dernière étape d'immunoaffinité, l'antisérum anti-CLL est purifié sur une colonne de Sépharose couplée à la chaîne légère correspondante (Bradwell, 2006).

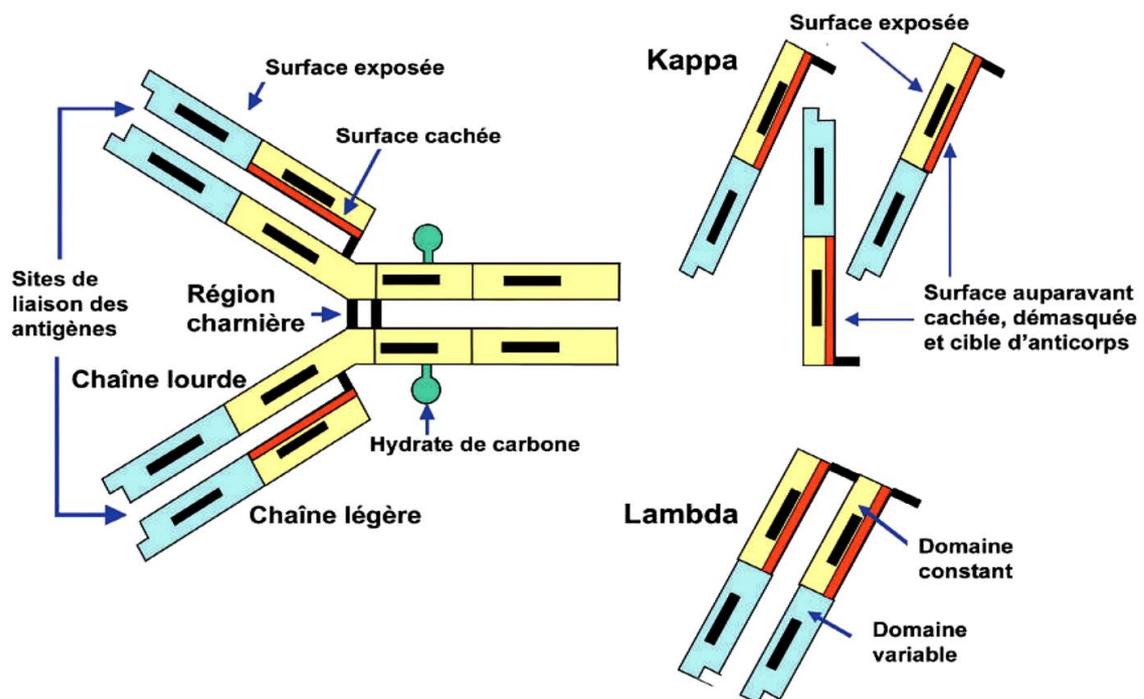


Figure 12 : Dosage sérique des chaînes légères libres par technique néphélométrique ou turbidimétrique (Bradwell, 2006).

Structure moléculaire d'une molécule d'Ig montrant notamment la structure des chaînes légères (κ et λ), les déterminants antigéniques exposés à la surface (surface exposée), communs à la molécule complète et aux CLL, ainsi que les déterminants cachés dans la molécule complète, mais exposés et cibles d'anticorps dans les CLL.

2.3.1. Avantage du dosage des chaînes légères libres dans le sérum plutôt que dans l'urine :

La recherche systématique des CLL dans les urines a été conseillée pour apprécier la gravité du MM. Leur concentration était évaluée par l'importance du pic MC sur le tracé de l'EPU. Cependant pour des raisons d'interprétation des résultats, le dosage sérique remplace avantageusement le dosage urinaire dans le bilan d'une GM. En effet :

- lors d'une lésion sélective du tubule proximal rénal chez un individu qui synthétise des quantités normales de CLL, celles-ci peuvent être augmentées dans les urines (par défaut de dégradation) et normales dans le sérum ;
- lors d'une stimulation modérée de la production avec une fonction rénale intacte, la concentration des CLL peut être normale dans les urines et augmentée dans le sérum ;
- lorsque la synthèse augmente fortement (par exemple, MM se péjorant) et la filtration glomérulaire rénale diminue, l'augmentation des CLL s'accroît dans le sérum mais pas dans les urines.

La concentration des CLL dans le sérum est le reflet direct de la production pour autant que la clairance rénale soit normale. Seul le dosage dans le sérum est recommandé actuellement pour la mise en évidence d'une stimulation des lymphocytes B, apprécier le degré de gravité d'une GM et suivre, sous traitement, l'évolution de la maladie proliférative (*Rivier, 2012*).

2.3.2. Valeurs normales :

Les normes de CLL ont fait l'objet de plusieurs publications. L'étude la plus détaillée des concentrations de CLL sériques chez des individus normaux a été publiée par Katzmann (*Katzmann et al, 2002*) montrant des résultats similaires à ceux de Bradwell et al. (*Bradwell et al, 2001*).

Les mêmes procédures étaient utilisées dans les deux études (anticorps polyclonaux fixés sur latex) mais un nombre de sujets plus élevé était étudié dans les travaux de Katzmann et al. Ces études ont montré que les concentrations des CLL sériques augmentent légèrement avec l'âge suite à une réduction de la filtration glomérulaire.

Tableau 6 : Valeurs moyennes et normes des concentrations des CLL et des ratios κ/λ dans les sérums de 282 individus sains (*Katzmann et al, 2002*).

Paramètre	CLL κ (mg/l)	CLL λ (mg/l)	Rapport κ/λ (mg/l)
Normes	7.3 (3.3-19.4)	12.7 (5.7-26.3)	0.6 (0.26-1.65)

2.3.3. Interprétation :

Les taux sériques de CLL renseignent sur l'évolution de la maladie. Chez les individus ayant une production normale de CLL, environ deux fois plus de CLL κ que de CLL λ sont produites. Cependant, la clairance rénale des CLL λ de PM plus élevée (car dimère), est plus lente que celle des CLL κ . Il en résulte un rapport κ/λ calculé d'une moyenne de 0,6 (valeur de référence 0,26 – 1,65) (*Katzmann & al, 2002*). Ces valeurs ne sont plus valables pour le diagnostic du MM chez les sujets à fonction rénale altérée (risque de faux positif), car la clairance sélective des CLL κ n'est plus. Il convient alors d'utiliser des valeurs adaptées pour l'IR chronique (0,3 à

3,1) (Hutchinson & al, 2008), qui améliore la spécificité sans perte de sensibilité du test lors du dépistage du MM.

Un rapport κ/λ en dehors de cet intervalle de référence établi par Katzmann & al. serait anormal et est considérée comme un **indicateur de monoclonalité (figure 13)**. Par exemple, un rapport κ/λ supérieur à 1,65 traduit une population MC produisant un excès de CLL sériques κ , tandis qu'un rapport κ/λ inférieur à 0,26 est indicateur d'un excès de production de CLL sériques λ .

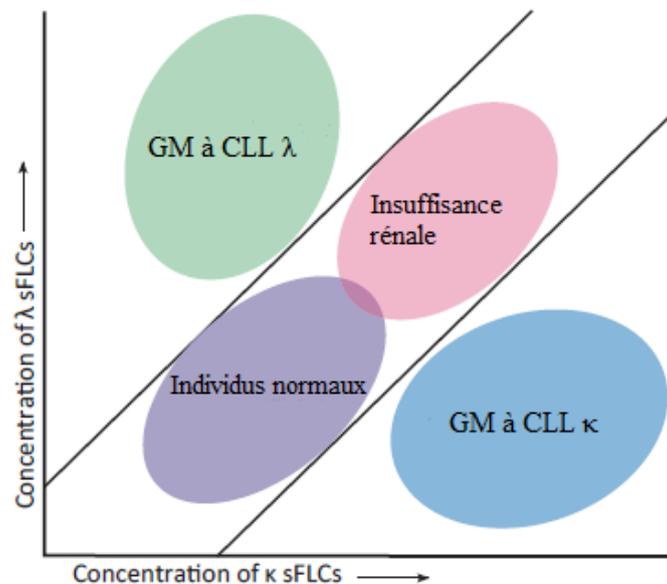


Figure 13 : Relation concentration-dépendante entre les CLL κ et CLL λ (Rajeevan & al, 2016)

Les deux traits diagonaux renferment les zones qui renseignent sur les valeurs de référence du rapport κ/λ pour les individus normaux ou les insuffisant rénaux. En dehors de cette zone, ce sont les individus ayant une GM à CLL κ ou CLL λ .

3. Applications cliniques du dosage des chaînes légères libres :

Dans les GM (myélome plasmocytaire, MGW, amyloïdose), la mesure des CLL sériques et du rapport κ/λ fait partie intégrante du bilan initial (recherche de prolifération clonale ainsi que des facteurs de risque d'agressivité clinique) et du suivi sous ou après thérapie. Dans certaines gammopathies polyclonales (maladies auto-immunes et infectieuses), les données du dosage des CLL sériques se révèlent intéressantes pour le suivi et le dépistage de complications MC.

▪ Dépistage :

Lorsqu'une gammopathie est suspectée, le dépistage se fait par EPS, IFx et dosage des CLL sériques, soit successivement, soit concomitamment. La valeur prédictive négative d'un rapport κ/λ normal est de 98% (Beetham & al, 2007) le dosage des CLL sériques permet de détecter des myélomes non sécrétants. Sur 28 cas de myélome non sécrétant, M. Drayson a retrouvé un dosage des CLL sériques anormal dans 23 cas (Drayson & al, 2001).

▪ **Valeur pronostique lors du diagnostic :**

En mesurant rétrospectivement les CLL sur les sérums prélevés au diagnostic des MGUS, l'équipe de la Mayo Clinic a pu proposer un score prédictif de l'évolution à 20 ans, en se fondant sur le type d'Ig, son taux et le rapport κ/λ (Rajkumar, Kyle & al, 2005) ; il est présenté dans le tableau suivant :

Tableau 7 : score pronostic des MGUS au diagnostic : estimation du risque d'évolution à 20 ans. Facteurs de risque : MGUS non IgG, pic supérieur à 15 g/l, κ/λ anormal (Rajkumar, Kyle & al, 2005).

Facteurs pronostics	Evolution à 20 ans (%)
0	5
1	21
2	37
3	58

Selon le même principe que pour les MGUS, l'analyse rétrospective du sérum prélevé lors du diagnostic de plasmocytome solitaire a permis d'élaborer un score prédisant l'évolution en myélome à 5 ans (Dingli, Kyle, Rajkumar & al, 2006).

Tableau 8 : score pronostic des plasmocytomes solitaires au diagnostic : estimation du risque d'évolution à 5 ans facteurs de risque : pic à 5 g/l à 2 ans du diagnostic, κ/λ anormal au diagnostic (Dingli, Kyle, Rajkumar & al, 2006).

Facteurs pronostics	Evolution à 5 ans (%)
0	13
1	26
2	62

Dans le cas de myélome indolent le taux du rapport κ/λ , le pourcentage de plasmocytes médullaires et le niveau du pic MC permettant d'estimer le risque d'évolution à 5 ans en myélome agressive (Kyle, 2007).

Tableau 9 : score pronostic des myélomes indolents : estimation du risque d'évolution à 5 ans facteurs de risque : $\kappa/\lambda < 0.125$ ou > 8 , plasmocytose médullaire $\geq 10\%$, pic MC $\geq 30g/l$ (Kyle, 2007).

Facteurs pronostics	Evolution à 5 ans (%)
1	25
2	51
3	76

Quant au myélome symptomatique le taux de CLL sériques au diagnostic est lié à la survie globale, au taux de $\beta 2m$ et à l'envahissement médullaire (Van Rhee & al, 2007). Associé au score pronostic international (ISS), le rapport κ/λ permet d'évaluer la survie médiane (Snozek, Katzmann, Kyle & al, 2008).

Tableau 10 : score pronostique des myélomes au diagnostic : estimation de la survie médiane facteurs de risque : $\kappa/\lambda < 0.03$ ou > 32 , albumine $< 35\text{g/l}$, $\beta_2\text{m} \geq 3.5\text{mg}/100\text{ml}$ (Snozek, Katzmann, Kyle & al, 2008).

Facteurs pronostics	Survie médiane (mois)
0	51
1	39
2	30
3	22

Dans le cas de l'Amylose AL un taux élevé de CLL sériques est associé à une surmortalité après autogreffe de cellules souches (Dispenzieri, Lacy, Katzmann & al, 2006), mais aucun score pronostic n'a été proposé à ce jour.

▪ **Suivi et évaluation de la réponse :**

Le rapport κ/λ prend toute sa valeur dans les cas de MM pauci ou non sécrétant sous traitement et pour l'évaluation d'une réponse complète stricte (RCs).

Dans l'évolution des myélomes à Ig complète, les dosages épisodiques des CLL sériques permettent de détecter les échappements en myélomes à chaînes légères. Les recommandations des groupes d'étude du myélome et de l'amylose AL sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 11 : indications du dosage des CLL sériques pour l'évaluation de la réponse (Durie & al, 2006 ; Gertz & al, 2005).

	RP	RC	RCs	Progression
Amylose AL sans pic ni CL urinaires	↓ 50% CLL	κ/λ IF + MO normaux	NR	↑ 50% CLL
Amylose AL avec pic ou CL urinaires	NR	NR	NR	NR
Myélome sans pic ni CL urinaires	↓ 50% CLL	NR	κ/λ IF + MO normaux	↑ 50% CLL
Myélome avec pic ou CL urinaires	NR	NR		NR

4. Conséquences de l'augmentation des chaînes légères libres monoclonales circulantes :

Le catabolisme des CLL passant obligatoirement par le rein, il est souvent lésé dans les dyscrasies plasmocytaires, ce qui donnera par la suite à différents types d'atteinte rénale.

4.1. Atteintes rénales :

• Atteintes fonctionnelles :

Quand il y a une concentration sérique suffisamment augmentée, les CLL saturant le système mégaline-cubuline de l'épithélium tubulaire proximal ; les CLL non absorbées se retrouvent alors en partie dans les urines et en partie dans le tubule distal sous forme de cylindres (complexes avec la protéine de Tamm-Horsfall) qui causent la mort du néphron. Il en résulte une IR avec différents degrés de gravité ça va de l'IR progressive souvent associée à une protéinurie massive à l'IR aiguë potentiellement mortelle, en passant par une fibrose rénale progressive.

• Atteintes organiques :

En fonction de la pathologie sous-jacente, les CLL sériques MC peuvent léser le néphron à 2 niveaux :

- Le glomérule : comme dans le cas de l'amylose AL où les dépôts fibrillaires peuvent léser différents compartiments rénaux, mais les lésions seront préférentiellement localisées sur le glomérule.
- Les compartiments tubulo-interstitiels : Dans le rein myélomateux, c'est la précipitation des CLL au niveau du tubule distal qui entraîne la néphropathie à cylindres du myélome, cette précipitation se faisant plus rarement au niveau du tubule proximal, ce qui induit ainsi une tubulopathie proximale (*Chapuis Cellier & Lombard, 2015*).

4.2. Dépôts amyloïdes et non amyloïdes des CLL :

• Dépôts amyloïdes :

Un mal repliement des CLL sériques due à des mutations somatiques amyloïdogènes ou à des facteurs environnementaux intracellulaires post-traductionnels conduit aux sous-types V λ _6 , V λ _2 et V λ _3. Kaplan et son équipe (*Kaplan & al, 2008*) ont montré l'augmentation du nombre de ponts disulfures dans la structure des CLL sériques de l'amylose AL. La formation de ces liaisons se déroule dans la cellule et résulte d'une série de réactions catalysées par des oxydoréductases.

Au final, les formes dimériques sériques et les formes mal repliées des CLL sériques sont anormalement augmentées, et sont dirigées vers le protéasome où elles sont imparfaitement dégradées, ce qui induit une accumulation de CL λ complètes mal repliées et de leurs produits de dégradation, incomplète à l'origine de la réponse UPR (unfolded protein response). L'intervention des enzymes catalyseurs du repliement dont les oxydoréductases pour tenter de stabiliser les CLL sériques mal repliées par la formation de ponts disulfures, transformant

ainsi un monomère mal replié en un dimère dont l'organisation en feuillets β va être à la base de la formation des fibrilles amyloïdes.

Les cibles de ces dépôts fibrillaires en dehors du rein sont : le cœur, le foie, le système nerveux périphérique et la peau, La physiopathologie de l'atteinte cardiaque a longtemps reposé sur la notion de toxicité des dépôts fibrillaires dans les espaces extracellulaires du cœur, avec une perte subséquente de parenchyme cardiaque sain.

• Dépôts non amyloïdes :

Les CLL sériques peuvent se déposer dans les membranes basales, principalement vasculaires, de la plupart des tissus, induisant ainsi une maladie dénommée maladie des dépôts de chaîne légère (LCDD)

Ces dépôts conduisent à des manifestations cliniques diverses (*Karlsson & al, 1969*), Ou alors sont totalement asymptomatiques et sont détectés seulement à l'autopsie. L'atteinte rénale est quasi constante.

Et les signes d'atteinte hépatique et cardiaque sont observés chez un quart des patients ayant une LCDD.

L'association avec le MM est plutôt fréquente, un myélome est diagnostiqué chez environ 50 p. 100 des patients avec une LCDD.

PARTIE PRATIQUE

Objectif du mémoire

L'objectif de ce mémoire est d'évaluer l'intérêt du dosage des chaînes légères libres sériques pour le diagnostic et le suivi des gammopathies monoclonales à travers une étude statistique.

Patients et méthodes

I. Patients :

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive et analytique incluant 75 patients atteints de MM et 45 MGUS colligés au service d'hématologie du Centre Anti Cancer (CAC) de BLIDA, de janvier 2012 à décembre 2015.

Nous avons procédé au recrutement des patients à partir des dossiers du laboratoire d'immunologie de l'UHU Hassiba Benbouali de Blida, dont les renseignements cliniques ont été complétés à partir des dossiers archivés au niveau du service d'hématologie du CAC de Blida.

1. Critères de sélection :

- **Critères d'inclusion :**

Nous avons retenus les patients répondant aux critères de diagnostic internationaux consensuels du MM et du MGUS (*The IMWG, 2003 ; Kyle & Rajkumar, 2009*) et ayant bénéficiés d'un suivi régulier à notre niveau. Les critères de diagnostic internationaux de ces deux entités sont résumés en **annexe 1**.

- **Critères d'exclusion :**

Nous avons exclu les patients atteints d'autres GM (MGW, les plasmocytomes, les leucémies).

2. Caractéristiques démographiques de la population étudiée :

2.1. Répartition selon l'âge au diagnostic :

Les données concernant la répartition des patients selon l'âge du diagnostic sont détaillées dans le tableau ci-après :

Tableau 12: répartition des patients MM et MGUS selon l'âge.

Age	Nombre et pourcentage de patients
MM	
Médiane (max-min) 64.5 (84 – 40)	
30- 39	1 (1%)
40- 49	12 (17%)
50- 59	17 (24%)
60- 69	22 (31%)
70- 79	14 (19%)
80- 89	6 (8%)
MGUS	
Médiane (max-min) 59.5 (-)	
30-39	1 (2%)
40-49	4 (9%)
50-59	8 (19%)
60-69	15 (35%)
70-79	9 (21%)
80-89	6 (14%)

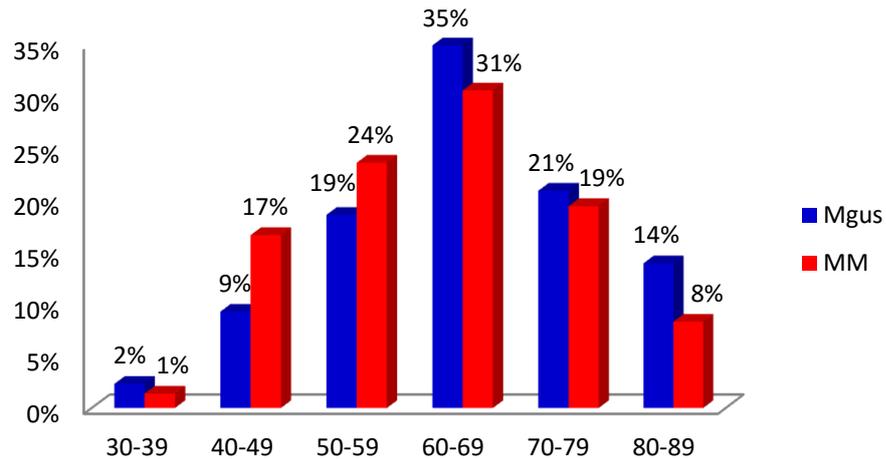


Figure 14 : Répartition des patients MM et MGUS selon l'âge

Parmi les patients atteints de MM inclus dans l'étude, l'âge du diagnostic le plus représenté se situe entre 60 et 69 ans. Ils sont 55% à avoir un âge compris entre 50 et 69 ans lors du diagnostic. La moyenne d'âge est de 62,5 ans avec des âges extrêmes de 38 et 89 ans.

En ce qui concerne les MGUS, la tranche d'âge la plus représentée lors du diagnostic est celle comprise entre 60 et 69 ans, avec seulement 11% des cas de moins de 50 ans. La moyenne d'âge étant de 65,18 ans et les âges extrêmes 35 et 84 ans.

2.2. Répartition selon le sexe :

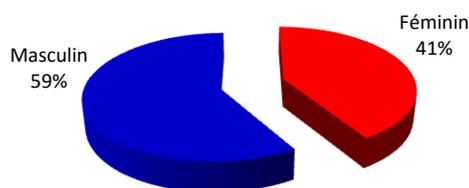


Figure 15 : Répartition des patients MM selon le sexe

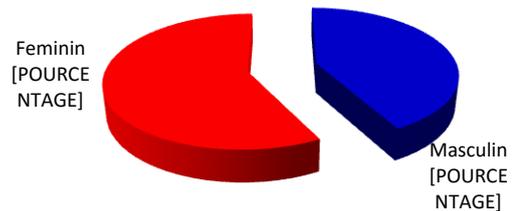


Figure 16 : Répartition des patients MGUS selon le sexe

Parmi les patients myélomateux sélectionnés, il y a une légère prédominance masculine, avec 59% d'hommes contre 41% de femmes. Le sex ratio est ainsi de 1,4/1. A l'inverse chez les patients MGUS, 58% des patients diagnostiqués sont des femmes, contre 42% d'hommes, avec un sex ratio de 1/0,7.

II. Matériels :

1. Matériel biologique :

- **Echantillon :**

Le sang est prélevé sur tube sec après ponction veineuse, puis coagulé. Le sérum est obtenu après centrifugation. La conservation s'effectue à -20°C dans la sérothèque du laboratoire.

2. Matériel non biologique :

- Automate d'électrophorèse et d'IFx **SAS1/SAS2 Helena**[®].
- Automate **BN Prospec**[®] pour la néphélométrie laser.
- Automate pour le dosage des CLL **SPA Plus**[®] de **Binding site**[®] (**voir annexe 4**).

III. Méthodes :

1. L'électrophorèse des protéines :

- **Principe :**

Une EPS a été réalisée pour l'ensemble des sérums sur l'automate SAS1/SAS2 marque Helena.

Un support gel d'agarose imprégné dans un tampon alcalin a été utilisé pour la séparation des protéines sériques en 5 fractions : albumine, α_1 globuline, α_2 globuline, β globuline, gammaglobuline.

Le but étant de mettre en évidence un pic MC pour l'évaluation quantitative du pic d'une part et des gammaglobulines normales résiduelles d'autre part.

2. L'immunofixation :

- **Principe :**

Une IFx sérique et urinaire a été effectuée par l'automate SAS1/SAS2 marque Helena pour :

- La confirmation de la monoclonalité de l'EPS.
- L'identification d'une Igm dans le sérum.
- Détection avec identification des PBJ dans les urines.

3. La néphélométrie laser :

- **Principe :**

Effectuée par l'automate BN prospec[®] pour la réalisation d'un profil protéique comprenant les paramètres suivants

- Taux des Ig résiduelles.
- Taux de la β_2 m.
- Taux de la CRP.

4. Dosage des chaînes légères libres (Freelite®) :

Le dosage des CLL sériques a été réalisé par turbidimétrie sur l'automate SPAPLUS de Binding site®, en utilisant des anticorps polyclonaux dirigés spécifiquement contre la partie cachée des CLL d'Ig.

- **Principe :**

La technique Freelite™ (The Binding Site®) utilise des anticorps adsorbés sur des particules de latex dans une réaction d'immunoprécipitation en milieu liquide, soit en néphélométrie, soit en turbidimétrie, dans le cas de notre étude le dosage fut réalisé par turbidimétrie.

L'évaluation de la concentration d'un antigène soluble par turbidimétrie nécessite l'ajout de l'échantillon à une solution d'anticorps approprié dans une cuvette. Un faisceau de lumière traverse la cuvette et quand la réaction antigène-anticorps se produit, la diffusion de la lumière augmente au cours de la formation des complexes immuns insolubles.

La lumière diffusée est mesurée par la diminution de l'intensité lumineuse de la lumière incidente. L'anticorps dans la cuvette est en excès pour que la quantité de complexes immuns formés soit proportionnelle à la concentration d'antigène.

Une série de calibrateurs dont la concentration en antigène est connue est utilisée pour construire une courbe de calibration avec la lumière diffusée versus la concentration en antigènes.

Les échantillons de concentration inconnue sont testés et leur résultat est déterminé à partir de la courbe de calibration.

- **Protocole :** Voir annexe 2.

5. Autres paramètres et données clinico-biologiques :

Pour chaque patient, diverses données clinico-biologiques pertinentes ont été collectées (**voir annexe 3**) (*cf chapitre I.3. MGUS et I.4. MM*), à savoir :

- L'âge et le sexe du patient ;
- La plasmocytose médullaire ;
- La présence ou l'absence de lésions osseuses ;
- Les paramètres biochimiques : l'albuminémie, la calcémie, la créatininémie ;
- Le taux d'hémoglobine ;
- La recherche d'un syndrome infectieux ;
- La survie globale.

RESULTATS

1. Isotype du composant monoclonal :

La présence d'un CM a été détectée chez tous les patients (120 patients) puis identifié.

La répartition des patients selon l'isotype du composant MC est représentée dans le tableau et le graphe ci-après :

Tableau 13 : type du composant monoclonal sérique dans la population étudiée

Type du CM	MGUS	MM
IgGK	16 (40%)	32 (42,7%)
IgGL	7 (17,5%)	12 (16%)
IgAL	5 (12,5%)	9 (12%)
IgAK	4 (10%)	5 (6,7%)
IgMK	3 (7,5%)	
Kappa	2 (5%)	9 (12%)
lambda	1 (2,5%)	8 (10,7%)
IgGK/L	1 (2,5%)	
IgML	1 (2,5%)	

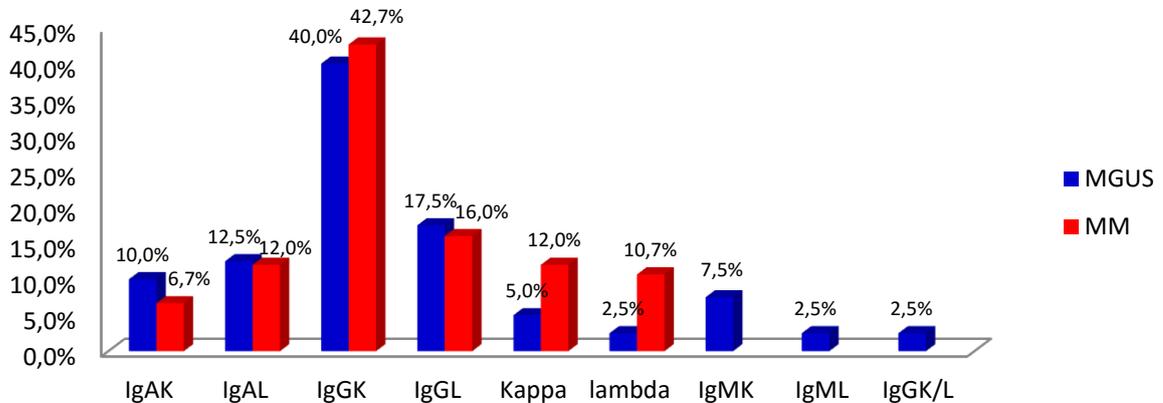


Figure 17 : Répartition des patients MM et MGUS selon l'isotype du CM

Chez les patients atteints de MM, dans plus de la moitié des cas le composant MC est une IgG (59%), et une IgA dans 19% des cas. Aucun cas de MM à IgD, IgE n'a été recensé parmi les patients recrutés. Les isotypes à chaîne légères κ_L sont retrouvés dans 61% et λ_L dans 39%.

Concernant les MGUS, 59% des cas ont une IgG et 22% ont une IgA comme composant MC.

2. Répartition des patients selon les critères de l'International Staging System :

La répartition des patients inclus dans l'étude selon la classification de l'ISS (*cf chapitre I.4. paragraphe 7.2.*), est détaillée dans le tableau et le graphique suivants :

Tableau 14 : Répartition des patients selon la classification de l'ISS

Stade	Pourcentage de patients	Nombre de patients
I	17 %	12
II	32%	22
III	51%	35

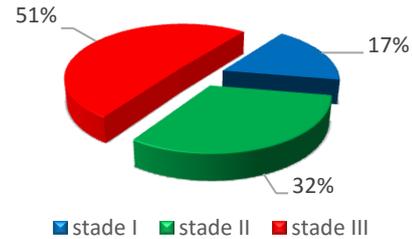


Figure 18 : Répartition des patients MM selon le stade ISS

La moitié des patients MM ont été diagnostiqué au stade III, selon la classification de l'ISS. 32% au stade II, et 17% au stade I.

3. Paramètres clinico-biologiques chez les patients myélomateux et les patients MGUS :

3.1. Plasmocytose médullaire :

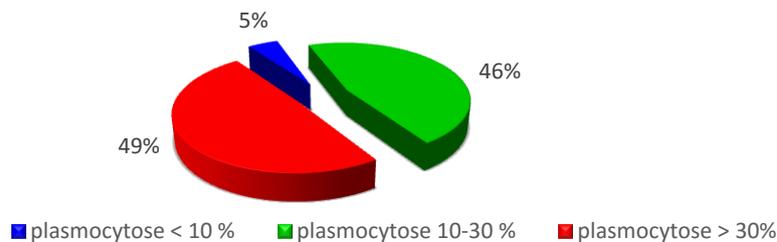


Figure 19 : Répartition des patients atteints de MM selon leur taux de plasmocytose médullaire

Une plasmocytose médullaire entre 10% et 30% est retrouvée chez 30 patients MM (46%), 32 patients (49 %) avaient une plasmocytose supérieure ou égale à 30%.

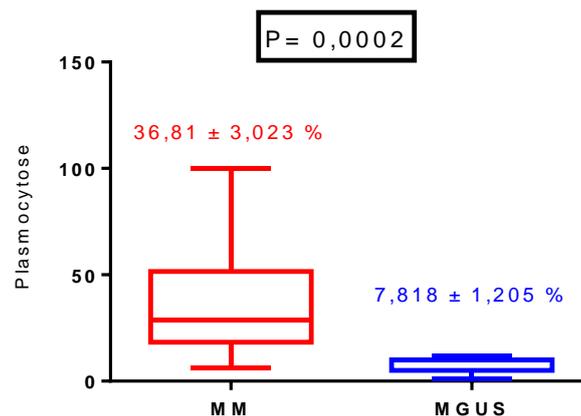


Figure 20 : Comparaison entre la plasmocytose des MM vs MGUS

Il existe une différence significative entre le taux de plasmocytose médullaire chez les patients atteints de MM et les MGUS, avec des moyennes respectives de (36,81 ± 3,023% vs 7,818 ± 1,205%, P= 0,0002, valeur max 100% vs 12%, valeur min 6% vs 1%).

3.2. Calcémie :

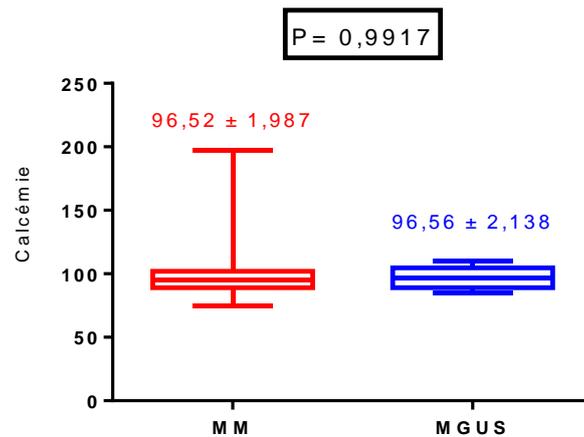


Figure 21 : Comparaison de la calcémie chez les MM vs MGUS

Concernant la calcémie, il n'existe pas une différence significative entre les patients atteints de MM et les patients MGUS, avec des moyennes respectives de $(96,52 \pm 1,987 \text{ mg/l vs } 96,56 \pm 2,138 \text{ mg/l})$, $P= 0,9917$, valeur max 197 mg/l vs 110 mg/l, valeur min 75 mg/l vs 80 mg/l).

3.3. Créatininémie :

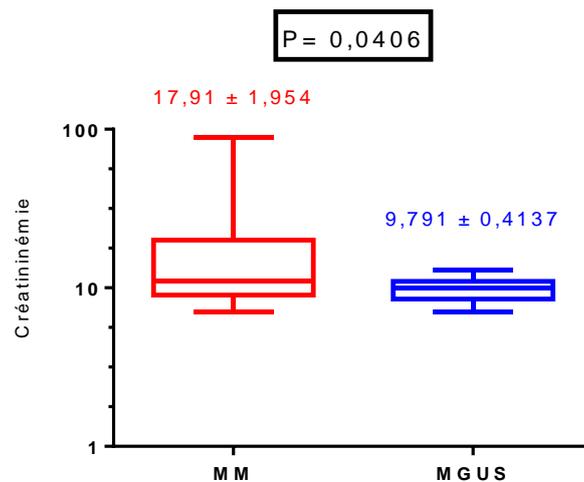


Figure 22 : Comparaison de la créatininémie des MM vs MGUS

En comparant les taux de créatinine, une différence significative entre les patients MM et les patients MGUS a été observée, avec des moyennes respectives de $(17,91 \pm 1,954 \text{ mg/l vs } 9,791 \pm 0,4137)$, $P= 0,0406$, valeur max 89 mg/l vs 13mg/l, valeur min 7 mg/l vs 7 mg/l).

3.4. Taux d'hémoglobine :

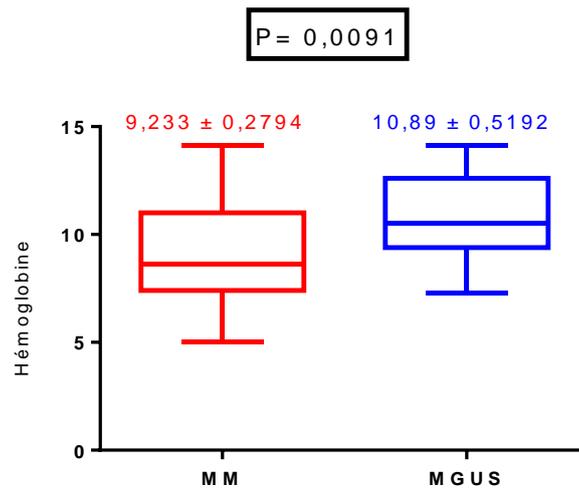


Figure 23 : Comparaison des taux d'hémoglobine chez les MM vs MGUS

Il existe une différence statistiquement significative entre les moyennes du taux d'hémoglobine chez les patients MM et les patients MGUS. Les moyennes sont respectivement de ($9,233 \pm 0,2794$ g/dl vs $10,89 \pm 0,5192$ g/dl, $P= 0,0091$, valeur max 14,1 g/dl vs 18.3 g/dl, valeur min 5 g/dl vs 7,3 g/dl).

3.5. Atteinte osseuse :

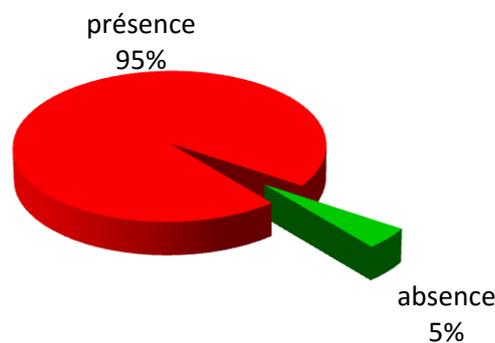


Figure 24 : Répartition des patients MM selon la présence ou non d'atteintes osseuses

Les patients MM présentaient des signes osseux cliniques et radiologiques dans 95,39% des cas.

3.6. $\beta 2$ microglobulinémie :

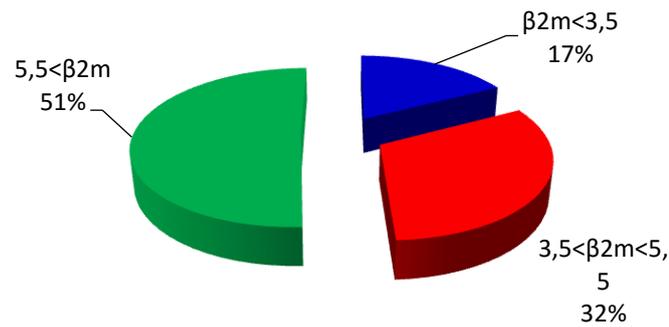


Figure 25 : Répartition des patients MM selon leur taux de $\beta 2m$

Chez les patients MM, 51% des patients ont des taux de $\beta 2m$ supérieurs à 5,5 mg/l (valeur seuil de la classification de l'ISS) (Greipp et al, 2005).

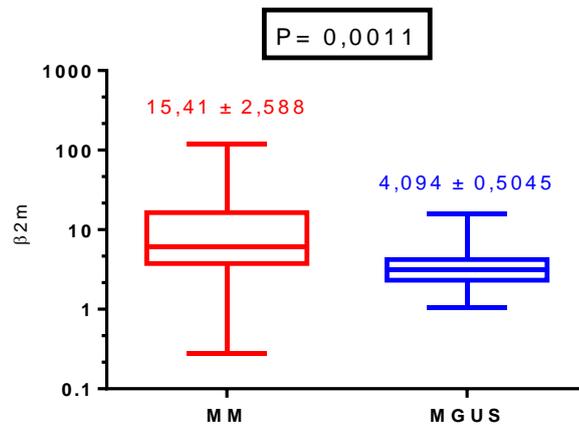


Figure 26 : Comparaison entre les taux de $B2m$ des MM vs MGUS

Il existe une différence statistiquement significative entre les moyennes des taux sériques de la $\beta 2m$ chez les MM et les MGUS. Elles sont respectivement de (15,41 ± 2,588 mg/l, 4,094 ± 0,5045 mg/l, P= 0,0011, valeur max 118 mg/l vs 15,9mg/l, valeur min 0,15 mg/l vs 1,04 mg/l).

3.7. Albuminémie :

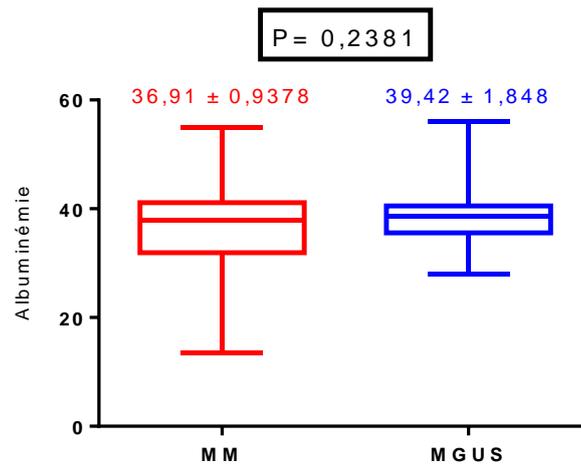


Figure 27 : comparaison de l'albuminémie chez les MM vs MGUS.

Il existe une différence entre les moyennes d'albuminémie des groupes de MM et MGUS, ($36,91 \pm 0,9378$ g/l et $39,42 \pm 1,848$ g/l avec un $P = 0,2381$, valeur max 55 g/l vs 56 g/l, valeur min 13,5 g/l vs 28 g/l). Cependant, cette différence n'est pas statistiquement significative.

3.8. Taux sérique de la protéine C réactive :

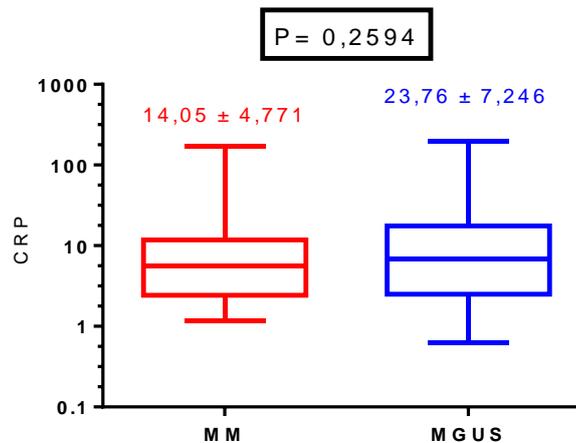


Figure 28 : comparaison du taux de la CRP chez les MM vs MGUS.

Il existe une différence entre les moyennes des taux sérique de la CRP des groupes de MM et MGUS, mais celle-ci n'est pas statistiquement significative ($14,05 \pm 4,771$ mg/l et $23,76 \pm 7,246$ mg/l avec un $P = 0,2594$, valeur max 173 g/l vs 194 mg/l, valeur min 0,28 mg/l vs 0,63 mg/l).

4. Taux sériques des chaînes légères libres :

4.1. Rapport κ/λ :

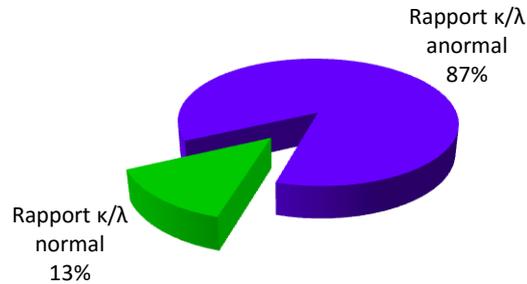


Figure 29 : Répartition des patients MM selon la valeur de leur rapport κ/λ du sérum de diagnostic

Sur 52 patients, 87% avaient un rapport κ/λ anormal, avec des valeurs en dehors de l'intervalle 0,26 - 1,65 mg/l, les 13% restant avaient un taux compris dans cet intervalle.

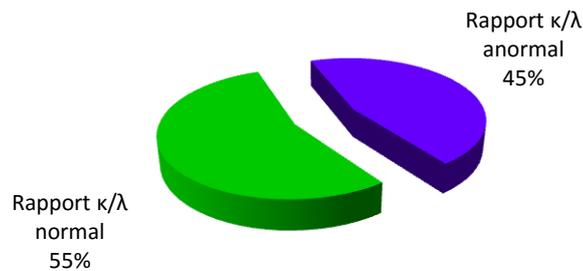


Figure 30 : Répartition des patients MGUS selon la valeur de leur rapport κ/λ du sérum de diagnostic

Sur 11 patients, 45% avaient un rapport κ/λ anormal, avec des valeurs en dehors de l'intervalle 0.26 - 1.65 mg/l, les 55% restant avaient un taux normal compris dans cet intervalle.

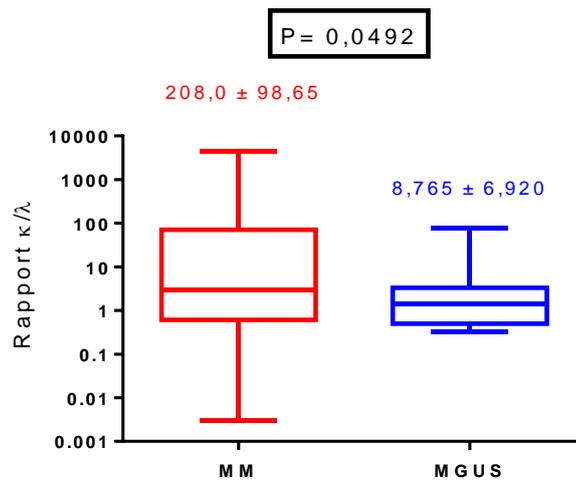


Figure 31 : comparaison du rapport κ/λ des patients MM vs MGUS

Il existe une différence significative entre les moyennes du rapport κ/λ des groupes de MM et MGUS. Elles sont respectivement de $(208,0 \pm 98,65$ vs $8,765 \pm 6,920$ avec un $P= 0,0492$, valeur max 4461,41 vs 77,84, valeur min 0,03 vs 0,33).

5. Paramètres biologiques et rapport κ/λ :

Deux groupes de patients atteints de MM ont été répartis selon la valeur de leur rapport κ/λ : Un groupe ayant un rapport κ/λ normal, c'est-à-dire compris entre 0,26 et 1,65 ([Katzmann & al, 2002](#)), et un autre ayant un rapport κ/λ anormal, avec des valeurs en dehors de cet intervalle.

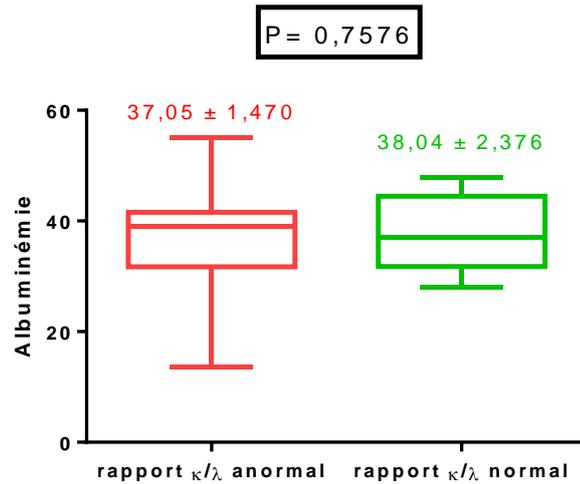


Figure 32 : Comparaison de l'albuminémie entre les patients ayant un rapport κ/λ normal ou non

Il existe une différence statistiquement non significative entre les moyennes d'albuminémie des deux groupes de patients ayant un rapport κ/λ anormal vs les patients ayant un rapport κ/λ normal. Respectivement, $37,05 \pm 1,470$ (N=37) vs $38,04 \pm 2,376$ (N=9), avec un $P=0,7576$.

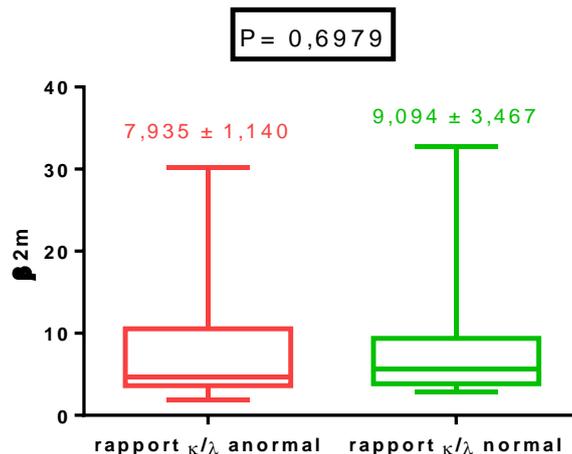


Figure 33 : Comparaison des taux de $\beta 2m$ entre les patients ayant un rapport κ/λ normal ou non

Il existe une différence statistiquement non significative entre les moyennes des taux sérique de $\beta 2m$ des deux groupes de patients ayant un rapport κ/λ anormal vs les patients ayant un rapport κ/λ normal. Respectivement, $7,935 \pm 1,140$ (N=40) vs $9,094 \pm 3,467$ (N=8) avec un $P=0,6979$.

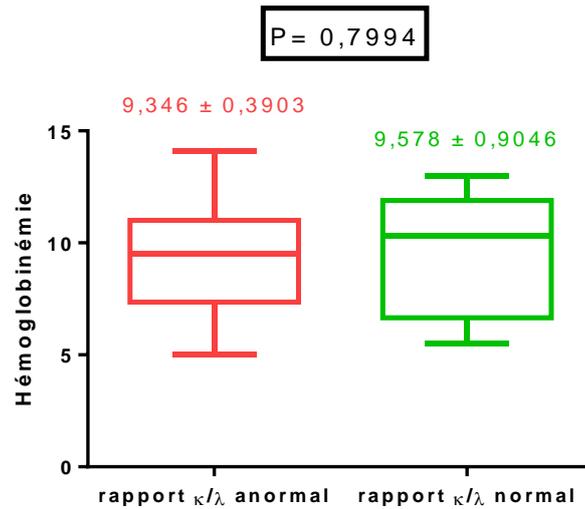


Figure 34 : Comparaison de l'hémoglobininémie entre les patients ayant un rapport κ/λ normal ou non

Il existe une différence statistiquement non significative entre les moyennes d'hémoglobininémie des deux groupes de patients ayant un rapport κ/λ anormal vs les patients ayant un rapport κ/λ normal. Respectivement, $9,346 \pm 0,3903$ (N=37) vs $9,578 \pm 0,9046$ (N=9), avec un P= 0,7994.

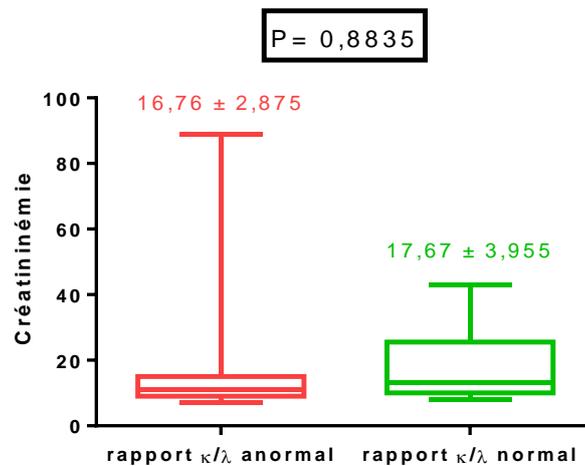


Figure 35 : Comparaison de la créatininémie entre les patients ayant un rapport κ/λ normal ou non

Il existe une différence statistiquement non significative entre les moyennes de créatininémie des deux groupes de patients ayant un rapport κ/λ anormal vs les patients ayant un rapport κ/λ normal. Respectivement, $16,76 \pm 2,875$ (N=37) vs $17,67 \pm 3,955$ (N=9) avec un P=0,8835.

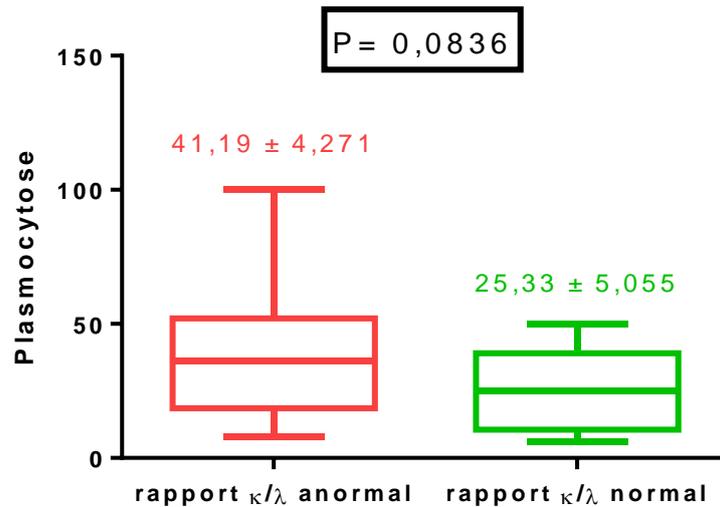


Figure 36 : Comparaison de la plasmocytose entre les patients ayant un rapport κ/λ normal ou non

Il existe une différence statistiquement non significative entre les moyennes de plasmocytose des deux groupes de patients ayant un rapport κ/λ anormal vs les patients ayant un rapport κ/λ normal. Respectivement, $41,19 \pm 4,271$ (N=37) vs $25,33 \pm 5,055$ (N=9) avec un $P=0,0836$.

6. Corrélations du rapport κ/λ et des chaînes légères libres sériques totales avec le taux du composant monoclonal :

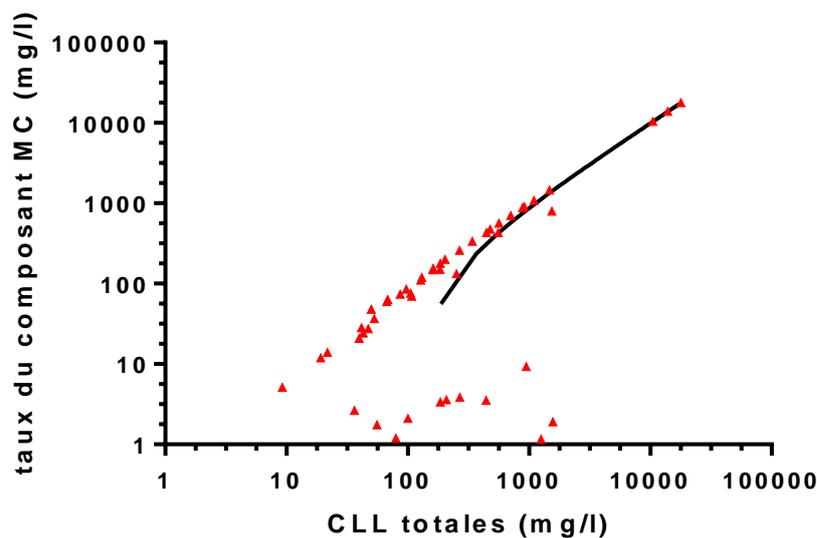


Figure 37 : corrélation entre le taux des CLL totales et le taux de composant MC

Il existe une corrélation statistiquement significative entre le taux des CLL sériques totales et le taux du composant MC avec ($P < 0,0001$, $r = 0,9956$).

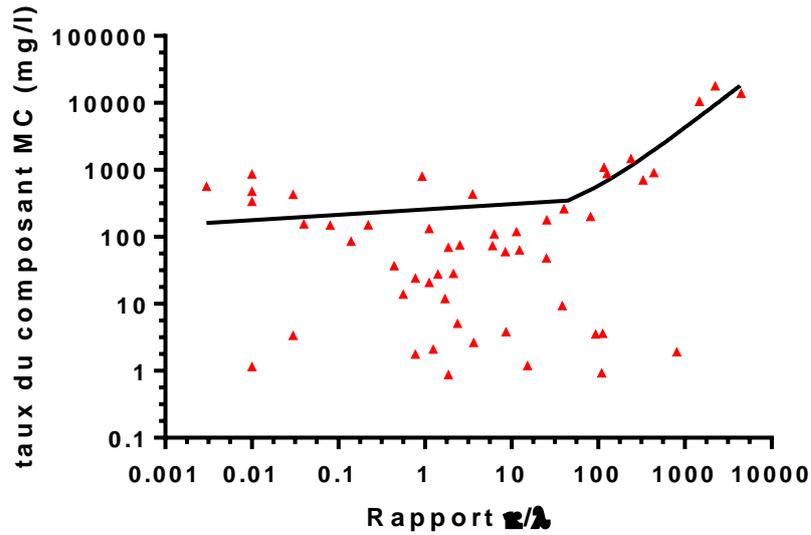


Figure 38 : Corrélation entre le rapport κ/λ et le taux du composant monoclonal.

Il existe une corrélation statistiquement significative entre le rapport κ/λ et le taux du composant MC avec ($P < 0,0001$, $r = 0,8793$).

7. Courbes de survie :

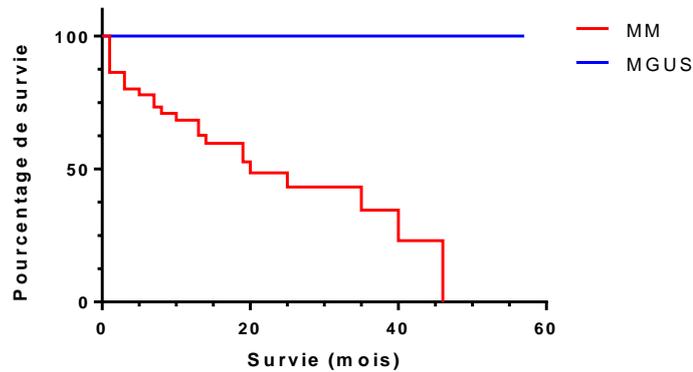


Figure 39 : Comparaison des courbes de survie des patients MM vs MGUS.

La médiane de survie des patients atteints de MM était estimée à 20 mois et elle est non définie pour les patients MGUS par absence de décès la différence entre les deux est significative avec ($P < 0,0001$, Hasard ratio = 0,07).

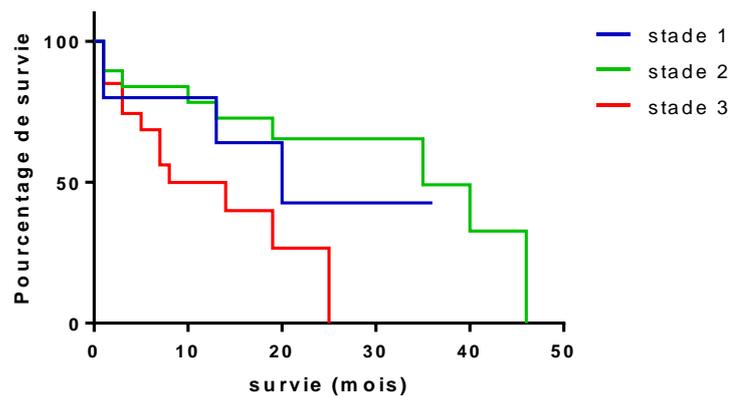


Figure 40 : Comparaison des courbes de survie des patients MM en fonction des stades de l'ISS.

La médiane de survie pour le groupe de patients MM au stade I de l'ISS est de 20 mois, elle est de 35 mois pour le stade II et 8 mois le stade III. La différence entre ces valeurs est statistiquement significative avec un $P = 0,0429$.

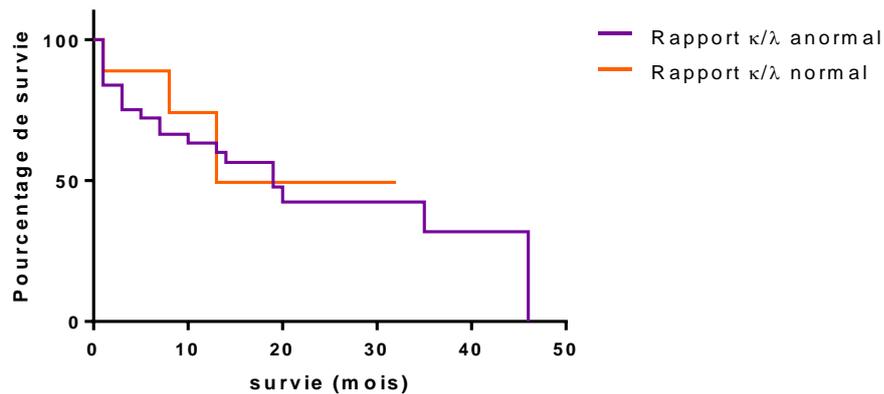


Figure 41 : Comparaison des courbes de survie en fonction du rapport κ/λ des patients MM

La médiane de survie pour le groupe de patients ayant un rapport κ/λ normal est de 13 mois alors que celle du groupe de patients ayant un rapport κ/λ anormal était de 19 mois. La différence entre ces valeurs est statistiquement non significative avec un $P = 0,6426$.

8. Comparaison des différents moyens de diagnostics effectués avec le test Freelite® pour les deux groupes de patients :

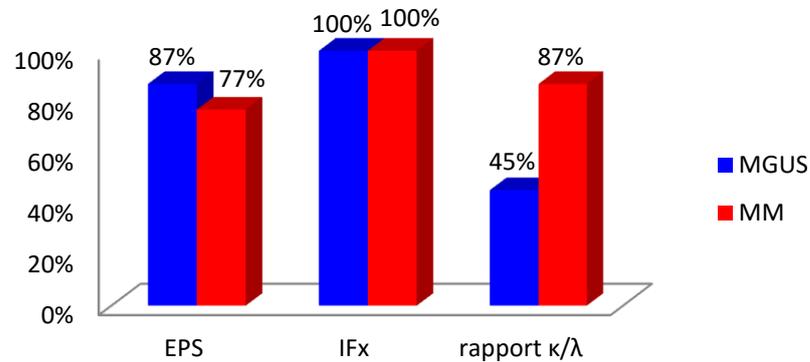


Figure 42 : comparaison des moyens diagnostics du MM et du MGUS.

Pour les patients MM toutes les IFx et PBJ se sont montrées positives, l'EPS était positive à 77% et le rapport κ/λ était anormal dans 87%.

Sur les 17 patients ayant une EPS négative, 9 avaient un rapport κ/λ anormal.

Pour les patients MGUS toutes l'IFx étaient positives la PBJ, l'EPS et le rapport κ/λ l'étaient respectivement à 36%, 87% et 45%.

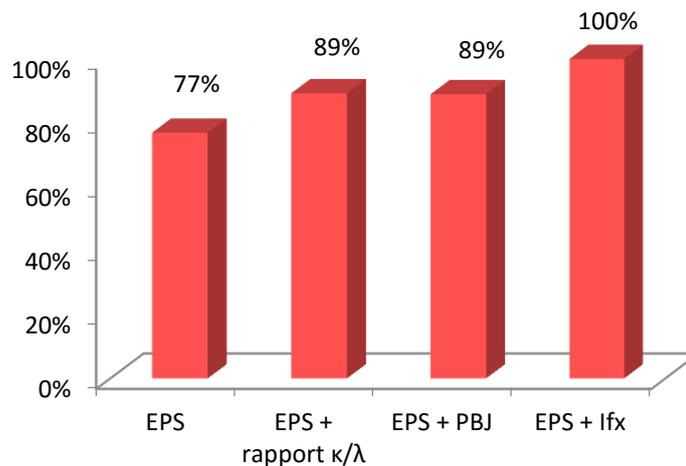


Figure 43 : comparaison des moyens diagnostics du MM

L'utilisation de l'EPS à elle seule pour la recherche de l'IgM dans notre échantillon s'est révélée positive dans 77% des cas, la combinaison de l'EPS avec le rapport κ/λ avait permis d'augmenter ce pourcentage jusqu'à 89%.

DISCUSSION

En premier lieu, la médiane d'âge au diagnostic de nos patients MM était de 64,5 ans avec 1% de l'effectif ayant moins de 40 ans, ces résultats sont tout à fait concordants avec ceux de la littérature, où la médiane d'âge au diagnostic est de 66 ans, avec 2% de patients ayant moins de 40 ans (*Kyle et al, 2003*).

En comparaison avec la situation épidémiologique en Algérie, où la moyenne d'âge est de 60 ans avec un pic de fréquence sur la tranche de 60-70 ans (*Bekadja, 2009*), nos résultats montrent une similarité avec une moyenne d'âge de 62,5 ans et un pic de fréquence sur la tranche de 60-70 ans. Ces résultats prouvent bien que le MM est une pathologie du sujet âgé.

Pour les cas de MGUS, la moyenne d'âge de notre étude (65,18 ans) se révèle proche de la valeur obtenue par l'étude de Kyle & al. en 2004 (64 ans) (*Kyle & al. 2004*).

Le sex ratio de notre étude (1,4/1) révèle une légère prédominance masculine pour le MM. Ce résultat concorde avec ceux trouvés dans les études publiées sur le MM, qui rapportent un sex ratio de 1.5 /1 (*Kyle & al, 2003 ; Greipp & al, 2005 ; Perez-Andres & al, 2009*).

A l'inverse, le sex ratio obtenu chez nos patients MGUS était de 1/0,7 contrairement aux données de la littérature qui attestent d'une prévalence plus importante chez l'homme (*Kyle & al. 1997*).

En ce qui concerne la distribution des patients MM selon l'isotype du composant MC, les valeurs de notre étude (IgG 59%, et IgA 19%, Les isotypes à chaîne légères κ_L 61% et λ_L 39%) se sont montrées semblables à celles retrouvées dans la littérature ; IgG 50%, IgA 20% avec des chaînes légères κ_L dans 66% et λ_L 33% des cas (*The IMWG, 2003*) ; (*Kyle et al, 2003*). Réciproquement, la prévalence des autres isotypes étaient différentes IgM (29 %), IgA (8 %) (*Decaux & al, 2006*).

Concernant la stratification des patients selon l'ISS, les pourcentages de patients obtenus sont difficilement comparables avec ceux retrouvés dans la littérature, ces derniers sont d'ailleurs très hétérogènes. En effet, la répartition des patients selon les critères de classification de l'ISS dépend du stade de la maladie au moment du diagnostic, alors que pour les différentes études il s'agit du stade lors du recrutement. Ce pourcentage varie notamment selon les critères d'inclusion et les objectifs de l'étude (*Greipp & al, 2005 ; Rajkumar & al, 2016*).

Au sujet de la plasmocytose médullaire, paramètre de grande valeur diagnostique, 95% des patients MM de notre étude avaient une plasmocytose supérieure à 10%. Ceci corrobore avec les données de la littérature, qui rapporte un pourcentage de 96% (*Kyle & al, 2003 ; IMWG, 2003*).

Selon les séries, plus de 13% des patients présentent au diagnostic du MM une hypercalcémie (calcémie > 110 mg/l) (*The IMWG, 2003 ; Kyle & al, 2003, San Miguel & al, 2006*). Le pourcentage de notre étude est inférieur à cette valeur, puisque seulement 7,46% qui présentent une hypercalcémie.

Près de 21% de l'effectif myélomateux est concerné par une atteinte de la fonction rénale, objectivée par une créatininémie supérieure à la norme définie par l'IMWG (> 20mg/L).

Ce chiffre est en accord avec ceux rapportés par l'étude de Kyle & al. (19%) (*The IMWG, 2003 ; Kyle & al, 2003*).

En revanche, pour les patients MGUS, toutes les valeurs de créatininémie et de calcémie sont normales.

Plus de 64% des patients MM de notre étude, comme dans d'autres séries rapportées dans la littérature (*Kyle & al, 2003 ; Greipp & al, 2005*), présentent au diagnostic une anémie (avec un taux d'hémoglobine inférieur de 2 g/dl de la valeur normale).

Concernant l'effectif des MGUS, 6 cas présentaient une anémie modérée et la valeur moyenne d'hémoglobine est de 10,89 g/dl, contrairement à la moyenne de 13 g/dl rapportés dans la littérature (*Decaux & al, 2006*). La présence d'anémie chez les patients MGUS peut s'expliquer par d'autres étiologies ou bien par le fait que nos patients sont à un stade pré-malin.

La moyenne du taux de CRP pour les patients MGUS qui était de 23,76 mg/l est plus élevée que celle des patients MM (14,05 mg/l), ceci peut être expliqué par la présence de syndromes inflammatoires non liés à une GM.

Les bilans radiographiques standards ont révélés des atteintes osseuses dans 95 % des patients MM de notre étude. Dans d'autres études, des anomalies osseuses ont été retrouvées chez 79% des patients au diagnostic (*Kyle & al, 2003*), 80% (*Kyle & Rajkumar, 2009*). Cette divergence peut être expliquée par le diagnostic de la plupart des patients à un stade avancé, puisque 83% de notre effectif MM ont été classés au 2^{ème} et 3^{ème} stade selon l'ISS.

La β_2m est inférieure à 3,5 mg/l (valeur seuil de l'ISS) dans 17% des patients de MM de la population étudiée, ce qui correspond aux données de la littérature (12,5%) (*Greipp & al, 2005*).

La moyenne d'albuminémie retrouvé dans le groupe des patients MM était identique à celle retrouvée dans la littérature, c'est-à-dire 36 g/l (*Greipp & al, 2005 ; Paiva et al, 2009*).

Le rapport κ/λ était perturbé chez 87% des patients MM de notre étude, ce qui est approximatif à la valeur de 95% rapportée dans la littérature (*Dispenzieri & al, 2009*). De même que pour le groupe MGUS le pourcentage de patients ayant un rapport κ/λ anormal (45%) était proche de la valeur 33% donnée par la littérature (*Rajkumar & al. 2005*).

La comparaison entre les groupe de patients ayant un rapport κ/λ n'avait permis aucune corrélation du rapport κ/λ avec les différents paramètres biologiques (albuminémie, β_2 microglobulinémie, hémoglobine, créatininémie), cependant nous avons constaté une bonne corrélation avec le taux du CM.

Dans la littérature on a rapporté une corrélation du rapport κ/λ avec la créatininémie (*Snozek & al, 2008 ; Kyrtsolis & al, 2007*).

Au sujet de la survie de nos patients nous avons comparé nos courbes de survie en fonction des 3 stades de l'ISS avec ceux de Dr Babasaci. Dans les deux cas on retrouve une différence statistiquement significative entre la survie les 3 groupes avec un $P= 0,01$ de l'étude de Dr Babasaci vs $P = 0,0429$ de notre étude.

Notre étude n'a pas révélé de différence significative entre la survie des groupes de patients MM ayant un rapport κ/λ normal ou non, alors que dans la littérature un rapport κ/λ serait associé à une survie plus courte (*Abraham & al. 2002*).

Conclusion

Le Myélome multiple est la pathologie la plus fréquente parmi les gammopathies monoclonales malignes. C'est une pathologie du sujet âgé, à légère prédominance masculine. Le MGUS est défini comme un état pré-malin présentant une grande différence sur le plan clinio-biologique avec le myélome multiple. cependant il reste aussi une pathologie du sujet âgé.

Tous nos patients avaient un composant monoclonal, l'isotype le plus fréquemment retrouvé fut celui de l'IgG, suivi par l'IgA.

Le diagnostic des deux entités repose sur la mise en évidence d'une Igm par EPS associée à une IFx, ainsi que par le dosage pondéral des Ig. Le myélogramme et le dosage des CLL sériques sont des éléments essentiels de ce diagnostic.

Dans le cadre du travail que venons de présenter, nous nous sommes focalisé sur l'étude du dosage des CLL sériques. Malgré un effectif peu représentatif et une durée de suivi trop réduite pour disposer de données justes sur une éventuelle évolution maligne des patients MGUS, l'analyse de nos résultats combinés à celle des études publiées dans la littérature nous ont permis d'acquérir une idée plus précise sur la place du dosage des CLL sériques dans le diagnostic et suivi des patients atteints de MM et du MGUS.

Le dosage des CLL sériques avait montré une meilleure détection du composant MC que l'EPS à elle seule. Néanmoins, le moyen de diagnostic le plus fidèle reste l'EPS et l'IFx sérique et urinaire puisque la combinaison EPS/IFx avait permis de détecter tous les composants MC.

Quand l'EPS est mise en défaut, le dosage des CLL sériques devient alors un élément biologique intéressant pour le diagnostic des gammopathies monoclonale. Il nous semble donc pertinent de suggérer d'accompagner la demande d'EPS d'un dosage sérique des CLL dès lors qu'un diagnostic de GM à traduction électrophorétique pauvre est suspecté.

Malgré le manque de corrélation avec certains marqueurs biologiques, le rapport κ/λ est un bon reflet de la prolifération monoclonale. Il peut être considéré comme un marqueur d'activité proliférative dans les GM. De plus il pourrait représenter un outil de suivi plus performant du fait de la demi-vie très courte des CLL.

Perspectives et recommandations :

A l'issue de cette étude on peut exprimer un certain nombre de recommandations

Pour les patient ayants une gammopathies monoclonale de signification indéterminée :

Nous proposons d'étendre l'étude sur un nombre plus important de patients avec un recul plus long en se référant par exemple à l'étude de Kyle En 1978, qui décrivait l'évolution d'une cohorte de 241 patients MGUS avec un suivi de plus de 5 ans et observait 11 % d'évolution vers une hémopathie maligne.*(Kyle, 1978)*.

Ceci nous aurait permis d'observer quelque cas de transformation maligne des MGUS et donc d'étudier le rôle du rapport κ/λ dans le pronostic de progression des MGUS

Pour les patients atteints de Myélome multiple :

Il aurait été souhaitable de recueillir d'avantage de données cliniques incluant notamment

- La LDH et La cytogénétique du fait de leur importance dans le pronostic du Myélome
- Le protocole thérapeutique pour évaluer le rapport κ/λ autant que critère de réponse au traitement

Et enfin il aurait été intéressant d'inclure des patients atteint de myélome indolent à fin de confronter le nombre de composants monoclonaux révélés par IFx face au nombre de patients ayant un rapport κ/λ anormal.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Articles scientifiques :

Abraham RS, Clark RJ, Bryant SC, Lymp JF, Larson T, Kyle RA, et al. Correlation of serum immunoglobulin free light chain quantification with urinary Bence Jones protein in light chain myeloma. *Clin Chem* **2002**: 48:655–7.

Avet-Loiseau H, Facon T, Daviet A, Godon C, Rapp MJ, Harousseau JL, Grosbois B, Bataille R. 14q32 translocations and monosomy 13 observed in monoclonal gammopathy of undetermined significance delineate a multistep process for the oncogenesis of multiple myeloma. *Intergroupe Francophone du Myélome. Cancer Res* **1999**: 59(18): 4546-50.

Avet-Loiseau H, Daviet A, Brigaudeau C, Callet-Bauchu E, Terré C, Lafage-Pochitaloff M, Désangles F, Ramond S, Talmant P, Bataille R. Cytogenetic, interphase, and multicolor fluorescence in situ hybridization analyses in primary plasma cell leukemia: a study of 40 patients at diagnosis, on behalf of the Intergroupe Francophone du Myélome and the Groupe Français de Cytogénétique Hématologique, *Blood* **2001**: 97: 822-825.

Avet-Loiseau H, Facon T, Guillerme G, Moreau P, Geneviève F, Zandecki M, Lai JL, Leleu X, Jouet JP, Bauters F, Harousseau JL, Bataille R, Mary JY. Chromosome 13 abnormalities identified by FISH analysis and serum beta 2-microglobulin produce a powerful myeloma staging system for patients receiving high-dose therapy. *Blood* **2001**: 97:1566-1571.

Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, Charbonnel C, Garban F, Hulin C, Leyvraz S, Michallet M, Yakoub-Agha I, Garderet L, Marit G, Michaux L, Voillat L, Renaud M, Grosbois B, Guillerme G, Benboubker L, Monconduit M, Thieblemont C, Casassus P, Caillot D, Stoppa AM, Sotto JJ, Wetterwald M, Dumontet C, Fuzibet JG, Azais I, Dorvaux V, Zandecki M, Bataille R, Minvielle S, Harousseau JL, Facon T, Mathiot C. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma : the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Blood* **2007**: 109:3489-3495.

Bach JF, Lesavre P. Syndromes immunoprolifératifs : Immunologie. Médecine-Sciences Flammarion. **1989**: 313-326.

Bain BJ, Clark DM, Lampert IA, Wilkins BS. Multiple myeloma and related disorders. In: *Bone marrow pathology*, 3rd edition. Oxford: Blackwell Science Ltd.; **2001**. p. 332–59.

Baraldi-Junkins CA, Beck AC, Rothstein G. Hematopoiesis and cytokines: relevance to cancer and aging. *Hematol Oncol Clin North Am* **2000**: 14:45-61.

Barille-Nion S, Barlogie B, Bataille R, Bergsagel PL, Epstein J, Fenton RG, Jacobson J, Kuehl WM, Shaughnessy J, Tricot G. Advances in biology and therapy of multiple myeloma. *Hematology, American Society of Hematology Education Program Book* **2003**:248-278.

Bataille R, Chappard D, Marcelli C, Dessauw P, Baldet P, Sany J, and Alexandre C. Recruitment of new osteoblasts and osteoclasts is the earliest critical event in the pathogenesis of human multiple myeloma. *J Clin Invest* **1991**: 88:62-6.

Bataille R, Chappard D, and Klein B. The critical role of interleukin-6, interleukin-1B and macrophage colonystimulating factor in the pathogenesis of bone lesions in multiple myeloma. *Int J Clin Lab Res* **1992**: 21:283-7.

Bataille R, Jourdan M, Zhang X G, Klein B. Serum levels of interleukin 6, a potent myeloma cell growth factor, as a reflect of disease severity in plasma cell dyscrasias. *J Clin Invest* **1989**: 84(6): 2008–2011.

Bayer-Garner IB, Sanderson RD, Dhodapkar MV, Owens RB, Wilson CS. Syndecan-1 (CD138) immunoreactivity in bone marrow biopsies of multiple myeloma: shed syndecan-1 accumulates in fibrotic regions. *Mod Pathol* **2001**: 10:1052-8.

Beetham R, Wassell J, Wallage MJ & al. Can serum free light chais replace urine electrophoresis in the detection of monoclonal gammopathies? *Ann Clin Biochem* **2007**: 44(Pt6) : 516-22.

Bekadja. Approches épidémiologiques en Algérie : Myélome multiple. *Revue algérienne d'hématologie* **2009**: 00:10-13.

Bellamy WT. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in multiple myeloma and other hematopoietic malignancies. *Semin Oncol* **2001**: 28(6):551-9.

Bence Jones H. On the new substance occurring in the urine of a patient with mollities ossium. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **1848**:138:55–62.

Bergsagel PL1, Kuehl WM. Chromosome translocations in multiple myeloma. *Oncogene* **2001**: 40:5611-5622.

Bidet A, Marit G, Bérard AM. Intérêt du dosage des chaînes légères libres des immunoglobulines. *Ann Biol Clin* **2008**: 66 (4): 427-31.

Blade J, Filella X, Montoto S, Bosch F, Molina R, Coca F, & al. Clinical relevance of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) serum levels in monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *European Hematology Association, Congress book; Amsterdam* **1998**.

Blade J, Lopez-Guillermo A, Rozman C, & al. malignant transformation and life expectancy in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol* **1992**: 81: 391-394.

Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* **2001**; 47: 673-80.

Bradwell AR. Serum Free Light Chain Analysis. 4th Edition. Birmingham: The Binding Site Ltd **2006**.

Caers J, Hose D, Kuipers I, & al. Thymosin {beta} 4 has tumor suppressive effects and its decreased expression results in poor prognosis and decreased survival in multiple myeloma. *Haematologica* **2010**; 95: 163-167.

Cesana C, Klersy C, Barbarano L, et al. Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *J Clin Oncol* **2002**; 20: 1625-1634.

Charlot-Lambrecht I, Salmon J-H, Gagneux-Lemoussu L, Bochot P, Escard J-P. Myélome multiple. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Appareil locomoteur, **2011**: 14-027-B-10.

Chappard D, Rossi JF, Bataille R, and Alexandre C. Osteoclast cytomorphometry demonstrates an abnormal population in B cell malignancies but not in multiple myeloma. *Calcif Tissue Int* **1991**; 48:13-7.

Chawla SS, Kumar SK, Dispenzieri A, et al. Clinical course and prognosis of non-secretory multiple myeloma. *Eur J Haematol* **2015**; 95(1):57-64.

Chevallier A, Place et exploration de la réponse immunitaire adaptative humorale dans les mécanismes de défense anti-infectieux, *Rev Fr Lab* **2004**; 366: 23-35.

Chiecchio L, Dagrada GP, Ibrahim AH, Dachs Cabanas E, Protheroe RK, Stockley DM, Orchard KH, Cross NC, Harrison CJ, Ross FM. UK Myeloma Forum. Timing of Acquisition of deletion 13 in plasma cell dyscrasias is dependent on genetic context. *Haematologica* **2009**; 94(12):1708-13.

Decaux O, Cuggia M, Ruelland A, Cazalets C, Cador B, Jego P, Grosbois B. Monoclonal gammopathies of undetermined significance and their progression over time. Retrospective study of 190 patients. *Presse Med*. **2006**; 35(7-8):1143-50.

Decaux O, Lodéb L, Minvielleb S, Avet-Loiseaub H. Anomalies génétiques dans le myélome : rôle dans l'oncogenèse et implications pronostiques. *La Revue de médecine interne* **2007**; 28: 677–681.

Rivier O. Chaînes légères libres d'immunoglobulines et gammopathies, utilité du dosage dans le sérum. *Forum Med Suisse* **2012**; 12(29–30):585–592.

Dimopoulos MA, Barlogie B, Smith TL, Alexanian R. High Serum Lactate Dehydrogenase Level as a Marker for Drug Resistance and Short Survival in Multiple Myeloma. *Ann Intern Med* **1991**; 115(12):931-935.

Dimopoulos, M.A. Anagnostopoulos Waldnstrom's macroglobulinemia. *Best pract res clin Heamatol* **2005**; 18(4): 747-65.

Dingli D, Kyle RA, Rajkumar SV, & al. Immunoglobulin free light chains and solitary plasmocytoma of bone. *Blood* **2006**; 108(6): 1979-83.

Dispenzieri A, Lacy MQ, Katzmann JA & al. Absolute values of immunoglobulin free light chains are prognostic in patients with primary systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* **2006**; 107(8):3378-83.

Dispenzieri A. POEMS syndrome. *Blood Rev* **2007**; 21:285-99.

Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, Miguel JS, Ludwig H, Hajek R, Palumbo A, Jagannath S, Blade J, Lonial S, Dimopoulos M, Comenzo R, Einsele H, Barlogie B, Anderson K, Gertz M, Harousseau JL, Attal M, Tosi P, Sonneveld P, Boccadoro M, Morgan G, Richardson P, Sezer O, Mateos MV, Cavo M, Joshua D, Turesson I, Chen W, Shimizu K, Powles R, Rajkumar SV, Durie BGM, on behalf of the International Myeloma Working Group. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* **2009**; 23:215-224.

Dispenzieri A, Katzmann JA, Kyle RA, Larson DR, Melton LJ 3rd, Colby CL, Therneau TM, Clark R, Kumar SK, Bradwell A, Fonseca R, Jelinek DF, Rajkumar SV. Prevalence and risk of progression of light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance: a retrospective population-based cohort study. *Lancet*. **2010**; 15;375(9727):1721-8.

Drach J, Angerler J, Schuster J, Rothermundt C, Tahlhammer R, Hass OA, & al. Interphase fluorescence in situ hybridization identifies chromosomal abnormalities in plasma cells from patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* **1995**; 86: 3915-21.

Drach J, Ackermann J, Fritz E, Krömer E, Schuster R, Gisslinger H, DeSantis M, Zojer N, Fiegl M, Roka S, Schuster J, Heinz R, Ludwig H, Huber H. Presence of a p53 gene deletion in patients with multiple myeloma predicts for short survival after conventional-dose chemotherapy. *Blood* **1998**; 92: 802-809.

Drayson M, Tang LX, Drew R & al, Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* **2001**; 97(9): 2900-2.

Durie BGM, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. *Cancer* **1975**; 36: 842-54.

Durie BGM, Harousseau JL, Miguel JS, Blade J, Barlogie B, Anderson K, Gertz M, Dimopoulos M, Westin J, Sonneveld P, Ludwig H, Gahrton G, Beksac M, Crowley J, Belch A, Boccadoro M, Turesson I, Joshua D, Vesole D, Kyle R, Alexanian R, Tricot G, Attal M, Merlini G, Powles R, Richardson P, Shimizu K, Tosi P, Morgan G, Rajkumar SV, on behalf of the International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* **2006**; 20:1467-1473.

Elias Campo, Steven H. Swerdlow, Nancy L. Harris, Stefano Pileri, Harald Stein and Elaine S. Jaffe: The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood* **2011**; 117(19):5019-5032.

Epstein J. Modulation of myeloma bone disease. Presented at The Role of the Bone Microenvironment in Multiple Myeloma, Chicago, IL, USA, June 26–27, **2001**.

Fernand J.P., Brouet J.C. Heavy-chain diseases. *Hematol. Oncol. Clin North Am.* **1999**; 13:1281-1294.

Fonseca R, Oken MM, Harrington D, Bailey RJ, Van Wier SA, Henderson KJ, Key NE, Van Ness B, Greipp PR, Dewald GW. Deletions of chromosome 13 in multiple myeloma identified by interphase FISH usually denote large deletions of the q arm or monosomy, *Leukemia* **2001**; 15:981- 986.

Fonseca R, Barlogie B, Bataille R, Bastard C, Bergsagel L, Chesi M, Davies FE, Drach J, Greipp PR, Kirsch IR, Kuehl WM, Hernandez JM, Minvielle S, Pilarski LM, Shaughnessy JD, Stewart AK, Avet-Loiseau H. Genetics and cytogenetics of multiple myeloma: a workshop report. *Cancer Research* **2004**; 64:1546-1558.

Gertz MA, Comenzo R, Falk RH & al. Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tours, France, 18-22 April 2004. *Am J Hematol* **2005**; 79(4):319-28.

Gertz MA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Hayman SR. Amyloidosis: diagnosis and management. *Clin Lymphoma Myeloma* **2005**; 6:208-19.

Geschickter CF. Multiple myeloma as a single lesion. *Annals of Surgery.* **1930**; 92(3):425-433.

Giuliani N, Bataille R, Mancini C, Lazzaretti M, and Barille S. Myeloma cells induce imbalance in the osteoprotegerin/osteoprotegerin ligand system in the human bone marrow environment. *Blood* **2001**; 98:3527-33.

Giuliani N. Données actuelles sur la physiopathologie des lésions osseuses du myélome. *Hématologie*, **2008**; 14 (3): 218-27

Gordon J. & al., Free light chain synthesis by neoplastic cells in chronic lymphocytic leukaemia and non-Hodgkin's lymphoma. *Immunology*. **1978**: 34, 397-404.

Greenberg AJ, Rajkumar SV, Vachon CM: Familial monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma: epidemiology, risk factors, and biological characteristics. *Blood* **2012**: 119: 5359-5366.

Gregersen H, Mellekjaer L, Ibsen JS, & al. The impact of M-component type and immunoglobulin concentration on the risk of malignant transformation in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Haematologica* **2001**: 86:1172-1179.

Greipp J, Kirsch PR, Kuehl IR, Hernandez WM, Minvielle JM, Pilarski S, Shaughnessy LM, Stewart JD, Avet-Loiseau AK. Genetics and cytogenetics of multiple Myeloma: a workshop report. *Cancer Res* **2004**: 64(4):1546-58.

Greipp PR, San Miguel J, Durie BGM, Crowley JJ, Barlogie B, Blade J, Boccadoro M, Child JA, Avet-Loiseau H, Kyle RA, Lahuerta JJ, Ludwig H, Morgan G, Powles R, Shimizu K, Shutsik C, Sonneveld P, Tosi P, Turesson I, Westin J. International Staging System for multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology* **2005**: 23:3412-3420.

Grogan TM. Plasma cell myeloma marrow diagnosis including morphologic and phenotypic features. *Seminars in Diagnostic Pathology* **2003**: 20:211–25.

Guenet L, Decaux O, Lechartier H, Ropert M, Grosbois B, Intérêt du dosage des chaînes légères libres d'immunoglobulines sériques pour le diagnostic et le suivi des gammopathies monoclonales, *Rev Med Int* **2007**: 28:689-697.

Harousseau JL, Shaughnessy J, Richardson P. Multiple myeloma. *Hematology, American Society of Hematology Education Program Book* **2004**: 237-256.

Hulin C. Mise au point. Les nouveaux médicaments du myélome. *La Revue de médecine interne* **2007**: 28:682-688.

Hutchinson CA, Harding S, Hewins P, et al. Quantitative assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with chronic kidney disease. *Clin Am Soc Nephrol* **2008**: 3[6]:1684-90.

Hutchison CA, Cockwell P, Reid S, Chandler K, Mead GP, Harrison J, Hattersley J, Evans ND, Chappell MJ, Cook M, Goehl H, Storr M, Bradwell AR. Efficient removal of immunoglobulin free light chains by hemodialysis for multiple myeloma: in vitro and in vivo studies. *Journal of the American Society of Nephrology* **2011**: 18:886-895.

Ivanyi B. Frequency of light chain deposition nephropathy relative to renal amyloidosis and Bence Jones cast nephropathy in a necropsy study of patients with myeloma. *Arch Pathol Lab Med* **1990**: 114:86-987.

Jacobson J, Hussein M, Barlogie B, et al. A new staging system for multiple myeloma patients based on the Southwest Oncology Group (SWOG) experience. *Br J Haematol* **2003**: 122:441-450.

Kahler, O. Zur Symptomatologii des multiplen Myleoms; Beobachtung von Albumosurie. *Prager Medicinische Wochenschrift*, **1889**: 14, 45.

Kaplan B, Ramirez-Alvarado M, Sikkink L, Golderman S, Dispenzieri A, Livneh A, & al. Free light chains in plasma of patients with light chain amyloidosis and non-amyloid light chain deposition disease. High proportion and heterogeneity of disulfide-linked monoclonal free light chains as pathogenic features of amyloid disease. *Br J Haematol* **2008**: 144:705-715.

Katzmann J.A, Clark R.J, Abraham R.S, Bryant S, Lymp J.F, Bradwell A.R, and Kyle R.A. Serum reference intervals and diagnostic ranges free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin. Chem.* **2002**: 48:1437–1444.

Kyrtsonis MC, Vassilakopoulos TP, Kafasi N, Sachanas S, Tzenou T, Papadogiannis A, Galanis Z, Kalpadakis C, Dimou M, Kyriakou E, Angelopoulou MK, Dimopoulou MN, Siakantaris MP, Dimitriadou EM, Kokoris SI, Panayiotidis P, Pangalis GA. Prognostic value of serum free light chain ratio at diagnosis in multiple myeloma. *Br J Haematol* **2007**: 137(3):240-3.

Kumar S, Witzig TE, Thompson MA, et al. Expression of angiogenic cytokines by plasma cells: a comparison of MGUS, smoldering myeloma and newly diagnosed symptomatic myeloma. *Blood* **2002**: 100:807a.

Kyle RA. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Natural history in 241 cases. *Am J Med* 1978 ; 64 : 814-26

Kyle RA. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and solitary plasmacytoma. Implications for progression to overt multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am.* **1997**: 11(1) :71-87.

Kyle RA and Rajkumar SV: Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia* 2009; 3(1): 3–9.

Kyle RA, Gertz MA. Primary systemic amyloidosis: clinical and laboratory features in 474 cases. *Semin Hematol* **1995**: 32:45-59.

Kyle RA, Remstein ED, Therneau TM, et al. Clinical course and prognosis of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *N Engl J Med* **2007**: 356(25):2582-2590.

Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, et al. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* **2002**: 346(8):564-569.

Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Offord JR et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* **2006**: 354(13):1362-1369.

Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Offord JR, Larson DR, Plevak MF, et al. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* **2002**: 346:564-9.

Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar V, Plevak MF, Melton III JM. Long-term follow-up of 241 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance: The original Mayo Clinic series 25 years later. *Mayo Clin Proc* **2004**: 79: 859-66.

Landgren O, Gridley G, Turesson I, Caporaso NE, Goldin LR, Baris D, Fears TR, Hoover RN, Linet MS. Risk of monoclonal gammopathy of Undetermined Significance (MGUS) and subsequent multiple myeloma among African American and white veterans in the United States. *Blood* **2006**: 107(3):904-906.

MA, Greipp PR, Dewald GW. Genomic abnormalities in monoclonal gammopathy of Malgeri U, Baldini L, Perfetti V, Fabris S, Vignarelli MC, Colombo G, Lotti V, Compasso Manier S, Leleu X : Myélome multiple : diagnostic clinique et perspective de traitement. Recommandations de l'International Myeloma Working Group (IMWG). Elsevier Masson SAS **2011**: 10.1016.

Mccelroy EA JR, Witszig TE, Gertz MA et al. Detection of monoclonal plasma cells in the peripheral blood of patients with primary amyloidosis. *Br J Haematol* **1998**: 100(2):326-7

NC, Szubert AJ, Drayson MT, Morgan GJ; UK Myeloma Forum. The t (14; 20) is a poor Ong F, Hermans J, Noordijk EM. A population-based registry on paraproteinaemia in the Netherlands. Comprehensive cancer Centre West, Leiden, the Netherlands. *Br J Haematol* **1997**: 99:914–20.

Paiva B, Vidriales MB, Perez JJ, Mateo G, Montalban MA, Mateos MV, Blade J, Lahuerta JJ, Orfao A, San Miguel JF. Multiparameter flow cytometry quantification of bone marrow plasma cells at diagnosis provides more prognostic information than morphological assessment in myeloma patients. *Haematologica* **2007**: 94:1599-1602.

Palumbo A, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, et al. Prevention of thalidomide- and lenalidomide-associated thrombosis in myeloma. *Leukemia* **2008**: 22:414—23.

Perez-Andres M, Almeida J, Martin-Ayuso M, De Las Heras N, Moro MJ, Martin-Nunez G, Galende J, Cuello R, Abuin I, Moreno I, Dominguez M, Hernandez J, Mateo G, San Miguel JF, Orfao A. Soluble and membrane levels of molecules involved in the interaction between clonal plasma cells and the immunological microenvironment in multiple myeloma and their association with the characteristics of the disease. *International Journal of Cancer* **2009**: 124:367-375.

Perez-Persona E, Vidriales MB, Mateo G, et al. New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood* **2007**: 110:2586-2592.

Pearse RN, Sordillo EM, Yaccoby S, Wong BR, Liao DF, Colman N, Michaeli J, Epstein J, and Choi Y Multiple myeloma disrupts the TRANCE/ osteoprotegerin cytokine axis to trigger bone destruction and promote tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA* **2001**: 98:11581-11586.

Pilarski LM, Giannakopoulos NV, Szczeppek AJ, Masellis AM, Mant MJ, Belch, AR. In multiple myeloma, circulating hyper-diploid B cells have clonotypic immunoglobulin heavy chain rearrangements and may mediate spread of disease. *Clin Cancer Research*. **2000**: 6:585–96.

Prognostic factor in myeloma but is associated with long-term stable disease in monoclonal
Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* **2005**: 106(3):812-817.

Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2014 Update on diagnosis, risk stratification, and management. *American Journal of Hematology* **2014**: 89:999–1009.

Riedel DA, Pottern LM: The epidemiology of multiple myeloma. *Hematology & Oncology Clinics of North America* **1992**: 6:225-47.

Riedel DA, Pottern LM: The epidemiology of multiple myeloma. *Hematology & Oncology Clinics of North America* **1992**: 6:225—47.

Robert A. Kyle, Morie A. Gertz, Thomas E. Witzig, John A. Lust, Martha Q. Lacy, Angela Dispenzieri, Rafael Fonseca, S. Vincent Rajkumar, Janice R. Offord, Dirk R. Larson, Matthew E. Plevak, Terry M. Therneau, And Philip R. Greipp : Review of 1027 Patients With Newly Diagnosed Multiple Myeloma. *Mayo Clinic Proceedings* **2003**: 78:21-33.

Ronco PM, Alyanakian MA, Mougenot B & al. Light chain deposition disease: a model of glomerulosclerosis defined at the molecular level. *J Am Soc Nephrol* **2001**: 12:1558-1565.

Roodman GD Mechanisms of bone lesions in multiple myeloma and lymphoma. *Cancer* **1997**: 80:1557-63.

Rosinol L, Cibeira MT, Montoto S, & al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance: predictors of malignant transformation and recognition of an evolving type characterized by a progressive increase in M protein size. *Mayo Clin Proc* **2007**: 82:428-434.

Roux S, Meignin V, Quillard J, Meduri G, Guiochon-Mantel A, Fermanand JP, Milgrom E, and Mariette X. RANK (receptor activator of nuclear factor-kappaB) and RANKL expression in multiple myeloma. *Br J Haematol* **2002**: 117:86-92.

San Miguel JF, Gutierrez NC, Mateo G, Orfao A. Conventional diagnostics in multiple myeloma. *European Journal of Cancer* **2006**, 42:1510-1519.

S, Bogni S, Lombardi L, Maiolo AT, Neri A. Detection of t(4;14)(p16.3;q32) chromosomal translocation in multiple myeloma by reverse transcription-polymerase chain reaction analysis of IGH-MMSET fusion transcripts. *Cancer Res* **2000** : 60:4058-61.

S. Manier, X. Leleu : Myélome multiple : diagnostic clinique et perspective de traitement. Recommandations de l'International Myeloma Working Group (IMWG). Elsevier Masson SAS **2011**: 10.1016.

S. Vincent Rajkumar : Multiple myeloma: 2014 Update on diagnosis, risk stratification, and management. *American Journal of Hematology* **2014**: 89:999–1009.

Shapiro-Shelef M, Calame K. Regulation of plasma-cell development. *Nat Rev Immunol* **2005**: 5:230-242.

Silvestris F, Cafforio P, Tucci M, Dammacco F. Negative regulation of erythroblast maturation by Fas-L(+)/TRIAL(+) highly malignant plasma cells: a major pathogenetic mechanism of anemia in multiple myeloma. *Blood* **2002**: 99:1305-1313.

Snozek CL, Katzmann JA, Kyle RA et al. prognostic value of the serum free light chain ratio in newly diagnosed myeloma: proposed incorporation into the international staging system. *Leukemia* **2008**: 22(10):1933-7.

Taube T, Beneton MNC, McCloskey EV, Rogers S, Greaves M, Kanis JA. Abnormal bone remodelling in patients with myelomatosis and normal biochemical indices of bone resorption. *Eur J Haematol* **1992**: 49:192 – 198.

The International Myeloma Working Group (IMWG): Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *British Journal of Haematology* **2003**: 121:749-757.

The International Myeloma Working Group (IMWG): Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *British Journal of Haematology* **2003**: 121:749-757.

Van Rhee F, Bolejack V, Hollmig K et al. High serum-free light chain levels and their rapid reduction in response to therapy define an aggressive multiple myeloma subtype with poor prognosis. *Blood* **2007**: 110(3):827-32.

Vijay A, Gertz MA. Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood* **2007**: 109:5096-103.

Vital A. Paraproteinemic neuropathies. *Brain Pathol* **2001**: 11:399—407.

Von Rustizky, J. Multiples myelom. *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie*, **1873**: 3, 162 – 172

Waller K.V. et al. Current concepts in proteinuria. *Clin Chem* **1989**: 35, 755-765.

Wuilleme S, Robillard N, Lode L, Magrangeas F, Beris H, Harousseau JL, Proffitt J, Minvielle S, Avet-Loiseau H, for the Intergroupe Francophone du Myélome. Ploidy, as detected by fluorescence in situ hybridization, defines different subgroups in multiple myeloma. *Leukemia* **2005**: 19:275-278.

Zandecki M, Geneviève F, P. Jégo, B. Grosbois. Les gammopathies monoclonales de signification indéterminée, *Rev Méd Interne* **2000**: 21 : 1060-74.

Zandecki M, Obein V, Bernardi F, Soenen V, Flactif M, Laï JL, & al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance: chromosomes changes are a common finding within plasma cells. *Br J Haematol* **1995**: 90: 963-7.

Sites internet :

<http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/monoclonal+immunoglobulin>.

<http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/module8/item126/texteI1.htm>.

ANNEXES

Plan des Annexes

ANNEXE 1 : Critères diagnostiques internationaux	I
ANNEXE 2 : Protocole de dosage FREELITE®	II
ANNEXE 3 : Fiche de renseignement de l'unité hospitalo-universitaire d'immunologie.	III
ANNEXE 4 : Images de l'automate SPA PLUS de The Binding Site®	VI

ANNEXE 1

Critères diagnostiques internationaux

(D'après The IMWG, 2003 ; Kyle et al, 2009 ; Swerdlow et al, 2008)

Diagnostic	Critères diagnostiques
MGUS	Présence d'une Ig monoclonale sérique (non IgM) < 30 g/L Plasmocytose médullaire < 10% et faible infiltration plasmocytaire à la BOM, si réalisée Absence d'atteinte organique compatible avec la présentation clinique d'un MM, c'est-à-dire absence de critère « CRAB » Absence d'un syndrome lymphoprolifératif B.
SMM (MM indolent ou asymptomatique)	Présence d'une Ig monoclonale sérique ≥ 30 g/L Et/ou Plasmocytose médullaire ≥ 10% Absence d'atteinte organique compatible avec la présentation clinique d'un MM, c'est-à-dire absence de critère « CRAB »
MM (symptomatique)	Présence d'une Ig monoclonale sérique ou urinaire* (exceptés les cas de MM non sécrétant) Plasmocytose médullaire ≥ 10% plasmocytome** Présence d'atteinte organique compatible avec la présentation clinique d'un MM, c'est-à-dire présence d'au moins un des critères « CRAB », à savoir : <ul style="list-style-type: none"> - HyperCalcémie : calcémie > 110 mg/L (soit 2,75 mmol/L) - Atteinte Rénale : créatininémie > 20 mg/L (soit 175 µmol/L) - Anémie : normocytaire normochrome avec un taux d'Hb < 10 g/dL ou > 2 g/dL en-dessous de la limite inférieure normale. - Lésions osseuses (Bone lesions) : lésions lytiques, ostéopénie sévère, fractures pathologiques
Autres gammopathies monoclonales	Macroglobulinémie de Waldenström Amylose AL systémique Syndrome POEMS

* Aucune valeur seuil quantitative n'est incluse dans les critères, mais généralement IgG > 30 g/L, IgA > 25 g/L ou PBJ > 1 g/24 heures

** La plasmocytose médullaire représente généralement > 10% de toutes les cellules nucléées, mais elle peut aller de < 5% à presque 100% (IMWG, 2003).

Abréviations : AL : Amylose à chaînes légères, BOM : biopsie ostéomédullaire, CRAB : hypercalcemia, renal failure, anemia, or bone lesions, Ig : Immunoglobuline, MGUS : gammopathie monoclonale de signification indéterminée, MM : myélome multiple, PEOMS : Polyneuropathy, organomégaly, endocrinopathy, monoclonal protein, skin changes.

Adapté de Lancet Oncology, 2014

ANNEXE 2

Protocole de dosage FREELITE®

(D'après Freelite® de The Binding Site)

- **Mise en place des réactifs et calibration :**

Avant de charger sur l'automate, les différents réactifs ont été agités doucement par inversion en évitant la formation de mousse et des bulles qui auraient pu poser problème lors du prélèvement de réactifs lors du dosage.

- **Control des réactifs :**

Au moins deux niveaux de contrôle doivent être testés au minimum une fois par jour. De plus, les contrôles doivent être testés après chaque calibration, à chaque nouveau lot de réactif et après les étapes de maintenance ou de réparation. Si la valeur d'un contrôle est en dehors des limites acceptables en utilisant une courbe en mémoire, il est nécessaire de faire une nouvelle calibration. Si après une nouvelle calibration, les valeurs du contrôle sont toujours en dehors des limites, les paramètres du protocole doivent être vérifiés et le test répété. Les résultats obtenus pour les échantillons ne doivent être acceptés que si les contrôles sont dans une gamme de $\pm 20\%$ par rapport à la concentration cible.

- **Programmation :**

Faire entrer les noms des malades avec leur numéro de sérum correspondant et les configurer pour un dosage des CLL kappa et lambda avec le calcul du rapport kappa/lambda

- **Mise en place des échantillons**

- **Démarrage du dosage**

- **Récolte des résultats**

- **Remarque :**

En raison de la nature des protéines monoclonales, certains échantillons peuvent présenter une non linéarité lors d'un dosage à différentes dilutions. Afin de quantifier correctement de tels échantillons nous avons suivi le protocole de dilution

Tous les dosages immunologiques peuvent être confrontés à un excès d'antigène. Afin d'identifier ces échantillons le SPAPLUS suit la réaction cinétique. Tout résultat avec une cinétique de réaction atypique donnera un message d'alerte «P». Les échantillons qui ont généré un message d'alertes P ont été retestés à une dilution plus élevée (à noter : le SPAPLUS effectuera les autos dilutions jusqu'au 1/100).

ANNEXE 3

Fiche de renseignement de l'unité hospitalo-universitaire d'immunologie

CENTRE HOSPITALO - UNIVERSITAIRE DE BLIDA
 UNITE HASSIBA BEN BOUALI
 UNITE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE D'IMMUNOLOGIE

Chef d'Unité

Pr. A. MEGHLAOUI

Personnel Médical :

Dr M. L. BOUDJELLA Dr Y. BOUCHEDOUB

Tél. : 025 41 18 95/96 poste : 220

N° d'identification : Date :

Nom : Prénom(s) :

Date de naissance : Sexe :

Hospitalisé Externe

CHU : Service : Médecin traitant :

Antécédents :

Début de la symptomatologie :

Signes cliniques :

Diagnostics suspectés :

Traitements :

Examens demandés :

Médecin traitant

ANNEXE 4

Images de l'automate SPA PLUS de The Binding Site®



ARIDJ Meriem
meriemaridj@gmail.com

KOUDRI Mustapha
dr.mkoudri@gmail.com

RAHEL Fella
fella.rahel@gmail.com

Titre :

Intérêt du dosage des chaînes légères libres d'immunoglobulines dans les gammopathies monoclonales

RESUME :

Les gammopathies monoclonales (GM) sont caractérisées par l'émergence et la prolifération d'un clone de lymphocyte B. Ces GM ont été classées par deux types : bénignes, c'est les gammopathies monoclonales de signification indéterminée (MGUS), ou malignes : les plus fréquentes sont le myélome multiple (MM), la maladie de Waldenström et l'amylose AL. Au cours des 10 dernières années, les moyens de diagnostic et de pronostic du MM et du MGUS ont été renforcés par un nouveau paramètre : le dosage des chaînes légères libres sériques (CLL).

Au cours de ce mémoire, nous avons étudié une population composée de 75 patients MM et 45 MGUS dans le cadre d'une étude rétrospective monocentrique. Nous avons comparé ces deux entités sur le plan clinico-biologique. Puis nous avons comparé deux groupes de patients MM selon que rapport κ/λ soit normal ou anormal et selon la moyenne des principaux paramètres biologiques et immunologiques. Nous avons également établi différentes courbes de survies. Et enfin nous avons comparé les différents moyens de diagnostic du MM. Ceci étant dans le but de justifier tout avantage potentiel du dosage des CLL sériques.

La confrontation de nos données avec ceux de la littérature avait montré une corroboration relative.

ABSTRACT :

Monoclonal gammopathies (GM) are characterized by the proliferation of a single clone of plasma cells derived from B cells in the bone marrow. These GM are classified in two types: benign, is the monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), or malignant: the most common are multiple myeloma (MM), Waldenström's disease and AL amyloidosis.

Over the past 10 years, means of diagnosis and prognosis of MM and MGUS are reinforced by a new assay : the serum free light chains (sFLC) assay.

75 MM patients and 45 MGUS were gathered as part of a single-center retrospective study. We compared these two entities on the clinical and biological level. Then, we compared two groups of patients according to their κ/λ ratio, and according to the average major biological and immunological parameters. We have also established different curves of survival. Finally, we compared different means of diagnosis of MM, in order to justify any potential benefit of the sFLC assay.

The comparison of our data with those of the literature showed a relative corroboration.

MOTS CLES : Gammopathies monoclonales (GM) – myélome multiple (MM) – gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS) – chaînes légères libres – Rapport Kappa/Lambda.

