

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université Saad Dahleb Blida-1
Faculté de Médecine
Département de Pharmacie

جامعة البليدة سعد دحلب-1
كلية الطب
قسم الصيدلة



Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en pharmacie

Intitulé :

**Intérêt de la recherche de protéinurie de Bence
Jones dans le diagnostic et le pronostic des
Gammopathies Monoclonales**

Présenté et soutenu par :

Session 2022

-HADJ AHMED NADJET.
-KARI HAMIDA.

Jury d'évaluation :

- Président du jury : Pr. BOUDJELLA M.L : professeur en Immunologie
- Examineur : Dr. SALAH KHADIDJA : assistante en Immunologie.

- Promoteur : Dr. CHERGUELAIN KHALED : maitre-assistant en Immunologie
- Co-promoteur : Pr. BOUDJELLA M.L : professeur en Immunologie.

Année Universitaire : 2021-2022

Remerciements

Au terme de ce travail, nous remercions d'abord Dieu le tout puissant qui nous a donné volonté, patience, santé et surtout persévérance durant nos années d'études.

Nos remerciements les plus sincères et le plus profonds vont à notre promoteur Monsieur Professeur CHERQUELAINE KHALED pour sa gentillesse et ses incessants encouragements tout au long de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre Co-promoteur professeur BOUJELLA pour avoir été disponible et nous accordé beaucoup de son temps précieux

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à professeur MEGHLAOU pour votre temps et information que ma orienté.

Vous nous avez guidés avec rigueur pour l'élaboration de ce mémoire.
Chaleureux remerciements

On vous présente nos sincères remerciements à **Pr. BENAZIZE Warda** que vous nous accordez en acceptant de présider le jury de cette thèse.

On vous présente notre profond remerciement Madame l'assistante SALAH KHADIDJA pour avoir accepté d'examiner, de juger et d'enrichir notre travail par vos remarques, recevez ici notre profond respect

En fin, nous tenons à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire soit sincèrement remerciée et les enseignants qui ont participé à nos formation soient
Sincèrement remerciés.

NADJET ET HAMIDA

Dédicaces

Dédicace de HADJ AHMED NADJET

Je dédie ce modeste travail comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance :

A l'épaule solide, l'oreille attentif, la personne la plus digne de mon estime et de mon respect...mon très cher papa

A la plus belle perle du monde...ma tendre mère

Le tout puissant, pour nous avoir donnée la force, la volonté, et la patience durant Toutes nos années d'étude. A nos chers parents qui sont la source éternelle de notre bonheur, Qui nous ont aidé à être ce que nous sommes aujourd'hui, avec tant d'amour et d'affection.

Que Dieu les gardes en bonne santé toujours.

Aucune dédicace n'aurait été aussi éloquente pour exprimer ma reconnaissance ... merci d'être mes parents.

*A mes chères sœurs **SABRINE ,AMEL ,RATIBA** pour leur Aide et leur soutien moral ,**INSAF** la joie de la maison, pour toute l'ambiance dont vous m'avez entouré*

*A mon frère adoré **BRAHIM**.*

Je dédie aussi ce mémoire à mes chers : grand-mères, grand père,

*A mon binôme et meilleure amie **HAMIDA** pour tous les bons moments ensemble pendant nos années d'étude*

*A ce qui ont cette pénible tâche **AYOUB** je souhaits tout le bonheur du monde.*

Merci d'être là. (NADJET)

Dédicace de Karí Hamída

Je dédie ce mémoire :

A ma très chère mère

Aucune dédicace très chère Maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement.

A mon cher père que dieu lui fasse miséricorde.

A mes frères et mes sœurs, merci pour m'avoir toujours supporté dans mes décisions, merci pour tout votre amour et votre confiance.

A mes amies Soumia, Iman, Soumialalou (Soumo), Fatíha, Marwa, je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A mon binôme NADJET, merci pour soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet,

Sommaire

Introduction :.....	1
PARTIE THEORIQUE	2
Historique :.....	3
-Gammapathies monoclonales:.....	5
1. Définition :.....	5
2. Classification	5
2.1. Gammapathies monoclonales dites « bénignes »	6
2.1.1. Gammapathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI)	6
2.1.2 Myélome non excréteur.....	6
2.1.3Autres.....	6
2.2. Gammapathies malignes (liées à une hémopathie).....	6
2.2.1Myélome multiple.....	6
2.2.2Macroglobulinémie de Waldenström.....	7
2.2.3Leucémie lymphoïde chronique (LLC).....	7
2.2.4 Gammapathies biclonales.....	7
2.2.5 Traces oligoclonaux.....	7
2.2.6 Autres hémopathies	7
2.2.7 Maladies des chaînes lourdes	8
1. Définition :.....	9
2. EPIDEMIOLOGIE :.....	9
3.étiologie:.....	11
4. physiopathologie:	12
4.1. Origine de l'évènement transformant :	12
4.1.1- anomalies cytogénétiques :	12
4.1.2-analyse cytogénétique par FISH:.....	13
4.1.3-anomalies recherchées en routine:.....	14
4.2. Mécanismes de signalisation dans les cellules myélomateuses : Stimulation par l'environnement :	15
4.3. Rôle des molécules d'adhésion, cytokines, et des cellules stromales de la MO dans le MM :	16
5. Types de MM :.....	16

5.1. Formes immunochimiques:.....	17
5.2. Formes cliniques :	18
FORMES PARTICULIÈRES.....	18
6. diagnostic du myélome multiple :	19
6.1. Présentation clinique :	19
6.2. Démarche diagnostique du MM:.....	20
6.2.1. Critères diagnostiques du myélome multiple:	21
6.2.2. Critères radiologique:.....	22
6.2.3. Critères hématologiques :	23
6.2.4. Critères biochimiques :	24
6.3. Bilan diagnostique du myélome multiple:	26
7. Complication:	27
Insuffisance rénale:	27
Physiopathologie de la néphrotoxicité aiguë de la protéine de Bence-	29
Jones chez le rat:	29
8. Pronostic:.....	30
9. Traitement:	32
9.1. Traitements symptomatiques	32
9.2. Le traitement spécifique :	33
9.3. LE DON DE MOELLE OSSEUSE:.....	36
9.4. Poursuivre les avancées dans les traitements médicamenteux :	36
10-Le suivi de la gammopathie monoclonale	36
Chapitre 2:Dosage des chaines légères libres:	39
Rappel:.....	39
Rappel sur les immunoglobulines:.....	39
1. la structure général Ig :	39
2. Structure générale d'un monomère d'Ig:.....	39
3-les cinq classes d'immunoglobulines:	40
3-1 : structure de base des Ig:	41
4. Les anomalies des Immunoglobulines :	42
5. Ig monoclonales et polyclonales:.....	42
5.1. Ig polyclonale :.....	42
5.2. Ig monoclonale: <i>nous allons injecter un Ag chez la souris</i> :	43
6. Caractéristiques des Ig monoclonales:	43

6.1. L'identité structurale	43
6.2. L'identité immunologique	43
6.3. L'identité de la configuration des gènes :	44
6.4. L'identité de la mobilité électrophorétique :	44
6.5. Leur localisation :	44
-Protéine de Bence Jones :	44
1. Définition :	44
2. Métabolisme de la protéine de Bence Jones:	45
3. Physiopathologies :	45
Méthodes de diagnostics:	46
1. Electrophorèse des protéines sériques (EPS) :	46
2. Immunotypage de composant sérique :	46
2.1. Immunofixation :	46
2.2. Immunosoustraction :	47
2.3. Immunotypage en électrophorèse capillaire:	47
• -Dosage des chaînes libres (Protéine de Bence Jones) :	49
1. Causes d'augmentation des CLLs :	49
*Augmentation monoclonale (ratio k/l anormal) :	49
*Augmentation polyclonale (ratio k/l normal) :	50
2. Explorations biologiques des chaînes légères libres sériques:	50
3. Dosage pondéral des CLLs:	50
3.1. Par anticorps polyclonaux : test Freelite®	50
3.2. Par anticorps monoclonaux :	51
a. N Latex FLC assay®	51
b. Test Seralite®	52
4. CLL urinaires et protéinurie de Bence-Jones:	52
1- Dans les pathologies clonales :	53
-Myélome:	53
1. Diagnostic :	53
2. Thérapeutique :	54
3. Pronostic :	54
4. Suivi de la réponse au traitement:	55
-Néphropathie à cylindres myéломateux:	55
-Plasmocytome :	55

Gammopathie monoclonale de signification indéterminée:.....	56
1. Diagnostic:.....	56
2. Pronostic:.....	56
3. Suivi :	56
-Amylose AL:.....	57
-Maladie de dépôt des chaînes légères:	57
-Insuffisance rénale et monoclonalité:	57
Absence d'indication :	58
-Résumé d'intérêt RLFC dans les GM:	59
PARTIE PRATIQUE	60
OBJECTIFS DE L'ETUDE:.....	61
Objectif principal :.....	61
Objectifs secondaires :.....	61
Chapitre 01:MATERIELS ET METHODES	62
1. Type d'étude:.....	62
2. Population de l'étude :.....	62
2.1. Patients :	62
1- Recueil des données :.....	62
3- Analyse des données :	63
III- MATERIELS :	63
1- Matériel biologique.....	63
IV- METHODES :	63
1- L'électrophorèse des protéines sur gel d'agarose :	63
Principe :.....	63
Technique	64
Mode opératoire.....	64
2-L'immunofixation :.....	66
Principe :.....	66
Technique	66
Mode opératoire.....	67
-Démarche diagnostique PRATIQUE:.....	71
-Analyse et traitement des données.....	71
Chapitre II : Résultats et	72
Discussions.....	72

Caractéristiques générales de la population étudiée:.....	72
1-Répartition des patients selon le sexe:.....	73
2-Répartition des patients selon les différentes tranches (l'âge):.....	73
-POUR LES FEMMES:	74
Pour l'homme:.....	74
3. Répartition selon les services de recrutement:.....	75
4. répartition selon la localisation électrophorétique	75
5-Répartition selon l'isotype:.....	76
6-Répartition selon la chaînes légères des Ig	77
7-La répartition selon le diagnostic:	77
2/-étude rétrospective pour MM	78
1-Caractéristiques immunochimiques	78
2-Répartition de la population étudiée selon résultat de IFXs:.....	79
3 : Répartition de la population étudiée selon l'isotype.....	79
4: Répartition de 1392 cas de MMII selon le type de CL	80
5: Répartition de 117 cas de MMCL selon le type de chaînes légères	80
6-Répartition de la population étudiée selon résultat de RFLC:.....	81
Pour le diagnostic	83
F/- Comparaison du dosage des CLL sériques par rapport aux autres test	84
Conclusion :.....	90
*Références bibliographiques.....	92

liste des annexes

-LISTE DES FIGURES:

<i>Figure</i>	<i>Titre</i>
Figure1	Le médecin tchèque Otto Kahler, né le 8 janvier 1849 à Prague, décédé à Vienne le 24 janvier 1893.
Figure2	Modèle de progression des gammopathies monoclonales
Figure3	Tumeur à cellule B mature: développement de la cellule myélomateuse
Figure 4	Une Carte montrant les taux d'incidence standardisés selon l'âge du myélome multiple dans le monde en 2018
Figure 5	les anomalies génétiques chromosomiques identifiées dans la pathogénie du MM.
Figure6	Interactions entre les cellules du MM et le micro environnement médullaire Myélomateux.
Figure7	l'adhésion de la cellule de myélome à la cellule stromale de la moelle osseuse
Figure8	1/ hyperplasie plasmocytaire, 2/ plasmocytes à cytoplasme vacuolé et 3/ à triple noyau
Figure9	Fracture suite à une chute,
Figure 10	Lésions osseuses due à la fragilisation de l'os
Figure 11	Lésion au niveau de la cotyle droit ostéolytique légèrement soufflante
Figure 12	Plasmocytes circulants avec des rouleaux érythrocytaires
Figure 13	Analyse par CMF : exemple d'immunophénotypage médullaire mettant en évidence des plasmocytes pathologiques et physiologiques
Figure 14	Physiopathologie de l'atteinte rénale au cours du MM
Figure 15	Immunofluorescence. A Photomicrograph of renal immunohistology in series rat. Cytoplasmic and cast fluorescence with antilambda antisera are shown (magnification x600). B Photomicrograph demonstrating absence of immunofluorescence in the glomerulus (magnification x900).
Figure 16	Structure des IgG humaines normales
Figure 17	Schéma explicatif des domaines variables et constants d'une immunoglobuline(Ig)
Figure 18	Différentes classes et sous classes des immunoglobulines
Figure 19	Catégories d'anticorps.
Figure 20	Electrophorèse des protéines sériques (EPS)
Figure 21	Immunofixation des protéines sériques
Figure 22	Immunosoustraction des protéines sérique
Figure 23	Représentant un exemple d'électrophorèse capillaire et d'immunosoustraction
Figure 24	Résultat d'une EPS réalisée sur gel d'agarose ((Laboratoire de biochimie, HMIMV ; 2011).
Figure 25	HELENA SAS-1 Urine analysis

Figure 26	électrophorèse sur SAS-1 des protéines urinaires
Figure 27	Résultat de la recherche de le PBJ par IF des protéines urinaires
Figure 28	la répartition selon le sexe
Figure 29	La distribution des malades selon les tranches d'âge
Figure 30	Répartition des cas de GM selon les tranches d'âge pour femme
Figure 31	Répartition des cas de GM selon les tranches d'âge pour Homme
Figure 32	la répartition des GM selon le service
Figure 33	Répartition des patients selon les résultats de l'immunotypage
Figure 34	répartition des patients selon l'isotype
Figure 35	Répartition des patients selon les résultats de l'immunotypage
Figure 36	la répartition des patients étudiés atteint des gammopathies
Figure 37	Répartition de la population étudiée selon la présence ou l'absence du pic
Figure 38	répartition selon le résultat d'IFXs
Figure 39	répartition selon l'isotype MM
Figure 40	répartition selon le type de chaines légères
Figure 41	répartition selon le type de chaines légères
Figure 42	répartition selon le résultat de PBJ
Figure 43	répartition selon le résultat de RFLC
Figure 44	comparaison entre deux dosage IFX et PBJ
Figure 45	Comparaison du dosage des EPS sériques par rapport PBJ.
Figure 46	Comparaison du dosage des CLL sériques par rapport auxPBJ
Figure 47	Comparaison du dosage des CLL sériques par rapport deux type de MM
Figure 48	Comparaison du dosage des CLL sériques par rapport aux autres test
Figure 49	Evolution de RFLC durant le traitement MM

LISTE DES TABLEAUX:

<u>Tableau</u>	<u>Titre</u>
Tableau 01	Valeur pronostique des principales anomalies chromosomiques
Tableau 02	Présentation clinique du MM*
Tableau 03	Critères diagnostiques selon L'IMWG. (Manier & Leleu, 2011)
Tableau 04	Critères de diagnostic établis par le Southwest Oncology Group [4].
Tableau 05	Stades de l'IRA selon classification de l'AKIN
Tableau 06	Stades de la Maladie rénale chronique selon la classification NFK
Tableau 07	La classification de Durie et Salmon
Tableau 08	Classification pronostique internationale (International Staging System « ISS »)
Tableau 09	ISS révisé
Tableau 10	Principales caractéristique des immunoglobulines
Tableau 11	Les types d'Immunoglobulines monoclonales.
Tableau 12	Evolution de PBJ durant le MM

LISTE DES ABREVIATIONS :

Abréviations	Significations
AL	Amylose
CL	Chaines Légères
CLL	Chaines Légères Libres
CM	Composant Monoclonal
EPS	Electrophorèse des Protéines Sériques
EPU	Electrophorèse des Protéines Urinaires
GMSI	Gammopathie Monoclonale de Signification Indéterminée
GM	Gammopathie monoclonal
IFXu	Immunofixation des protéines urinaires
IG	Immunoglobuline
IMWG	International Myeloma Working Group
ISS	International Staging System
MM	Myélome Multiple
MMCL	Myélome Multiple à Chaine Légère
MGUS	Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance
MMII	Myélome Multiple à Immunoglobuline Intacte
MMNS	Myélome Multiple Non Sécrétant
MMOS	Myélome Multiple Oligo Sécrétant
PBJ	Protéines de Bence-Jones
RFLC	Ratio of Free Light Chain
SIFX	Immunofixation des Protéines Sérique

Résumé:

INTRODUCTION :

Le myelome multiple(MM)est une hémopathie maligne due à une prolifération tumorale de plasmocytes monoclonaux dans la moelle osseuse, produisant une immunoglobuline monoclonale et/ou un fragment d'immunoglobuline monoclonale ,qui peuvent être décelés dans le sang et/ou dans les urines lorsqu'elle est associée à une atteinte rénale.L'électrophorèse des protéines et l'immunofixation sériques et/ou urinaires sont des examens utilisés dans la recherche et l'identification d'Ig entière et/ou fragment (chaîne légère kappa ou/et lambda.)

Depuis 2014 l'IMWG a introduit le dosage des CLL dans le diagnostic et le pronostic des MM, où la surproduction de CLL monoclonale par les plasmocytes malins est à l'origine de la saturation de la capacité rénale à dégrader les CLL, ce qui explique leur apparition dans les urines sous forme de Protéines de Bence Jones (PBJ).

OBJECTIF :

Evaluer l'intérêt du dosage des CLL et de la recherche de PBJ chez les patients atteints des gammopathies monoclonales on principe MM.

PATIENTS ET METHODES :

L'étude a inclus 2409 patients, suivis au niveau d'unité d'immunologie CHU Hassiba ben bouali Blida pour GM monoclonales confirmé et qui ont bénéficiés d'une électrophores des protéines sériques et urinaires (kit Helena SB24), durant la période allant de 2013 jusqu'au mois 2022(Avril).

RESULTAT :

Le diagnostic a été posé sur la base des résultats d'EPS, (IFXs) et/ou de l'analyse des urines de 24 heures, et pour un certain nombre de patients par le RFLC. Cette technique a confirmé le diagnostic déjà posé par IFXs et/ par l'analyse des urines pour certains cas et a permis de d'objectiver le processus malin non détecté par ces techniques d'autres cas, aussi le meilleure test pour le pronostic et suivi de traitement selon le type MM.

CONCLUSION :

Au terme de cette étude effectuée sur cette population, l'information apportée par l'interprétation des concentrations en CLL urinaire, PBJ est utilisable, d'obtention facile et rapide et permet une bonne évaluation pour des patients MM avec atteinte rénale.

Pour RFLC est utilisable, plus sensible et rapide permet un bonne diagnostic pour MMCL, MMNS, Amylose AL aussi dans le diagnostic MGUS au stade début de MM.

Abstract:

INTRODUCTION:

Multiple myeloma (MM) is a hematological malignancy due to a tumor proliferation of monoclonal plasma cells in the bone marrow, producing monoclonal immunoglobulin and / or a fragment of monoclonal immunoglobulin, which can be detected in the blood and / or urine when associated with renal involvement. Serum and/or urinary protein electrophoresis and immunofixation are examinations used in the search for and identification of whole Ig and/or fragment (kappa and/or lambda light chain.)

Since 2014 the IMWG has introduced CLL assay in the diagnosis and prognosis of MM, where the overproduction of monoclonal CLL by malignant plasma cells is at the origin of the saturation of the renal capacity to degrade CLL, which explains their appearance in the urine in the form of Bence Jones Proteins (PBJ).

OBJECTIVE:

To evaluate the interest of CLL assay and PBJ research in patients with monoclonal gammopathy on MM principle.

PATIENTS AND METHODS:

The study included 2409 patients, followed at the level of immunology unit CHU Hassiba ben bouali Blida for gm monoclonal confirmed and who benefited from an electrophore of serum and urinary proteins (Kit Helena SB24), during the period from 2013 to the month 2021 (April).

RESULT:

The diagnosis was made on the basis of EPS results, (IFXs) and/or 24-hour urinalysis, and for a number of patients by the RFLC. This technique confirmed the diagnosis already made by IFXs and / by urine analysis for some cases and made it possible to objectify the malignant process not detected by these techniques of other cases, also the best test for prognosis and follow-up of treatment according to the MM type.

CONCLUSION:

At the end of this study carried out on this population, the information provided by the interpretation of urinary CLL concentrations, PBJ is usable, easy and fast obtained and allows a good evaluation for MM patients with renal involvement.

for RFLC is usable, more sensitive and fast allows a good diagnosis for MMCL, MMNS, Amyloidosis AL also in the mgus diagnosis at the early stage of MM.

ملخص:

مقدمة:

الورم النقوي المتعدد هو ورم خبيث دموي بسبب انتشار لخلايا البلازما وحيدة النسيلة في نخاع العظم، مما ينتج عنه غلوبولين مناعي احادي النسيلة و/او جزء من الغلوبولين المناعي احادي النسيلة،و الذي يمكن اكتشافه في الدم او البول عندما يرتبط بتورط الكلى، المصل و/او الرحلان الكهربائي للبروتين البولي و التثبيت المناعي هي فحوصات تستخدم في البحث عن و تحديد جسم المضاد او جزء منه.

منذ 2014، ادخل اختبار سلاسل الخفيفة في تشخيص هذا الورم، حيث يكون الافراط في الانتاج هذه السلاسل احادية النسيلة بواسطة خلايا البلازما الحبيثة هو اصل تشعب القدرة الكلوية عل تحليل هذه السلاسل ، مما يفسر ظهورها في البول في شكل بروتينات بانس جونس

الهدف:

لتقييم اهتمام فحص و الحث عن السلاسل الخفيفة (بروتينات بانس جونس) في الدم و البول للمرضى الذين يعانون من اعتلال غاموباثي احادي النسيلة.

المرضى و الاساليب :

الدراسة شملت 2409 مريض، متابعين على مستوى وحدة المناعة في المستشفى الجامعي حسبية بن بو علي بلدية لمرض غاماباثي احادي نسيلة مؤكد ، و استفادوا من تحليل واحد على الاقل لتحليل السلاسل الخيفة بانس جونس على مستوى الدم او البول الكترولفراراز خلال فترة 2013 الى غاية افريل 2021

نتيجة:

تم تشخيص على اساس نتائج الكتريفراز و امينوفيكساسيو و /او تحليل البول على مدار 24 ساعة ، و لعدد من المرضى ف ل س . اكدت هذه التقنية التشخيص الذي تم بالفعل بواسطة تحليلين السابقين لبعض الحالات و جعلت من الممكن تشخيص المرض ايضا في بعض الحالات و تساعد في المتابعة لتطور هذا المرض و تقييم فترة علاجه

استنتاج:

في نهاية هذه الدراسة التي اجريت على هؤلاء لمرضى، فان المعلومات التي يوفرها هذه التحليل ، تحليل بانس جونس قابلة للاستخدام، سهلة و سريعة للحصول عليها و تسمح باجراء تقييم جيد للمرضى خاصة الذي يعانون من تورط كلوي

ف ل س قابلة للاستخدام و اكثر حساسية يسمح بتشخيص عدة انواع من احادي النسيلة و النشواني الاحادي ، كما يسمح بالتشخيص المبكر له أيضا.

Introduction :

Les Gammopathies monoclonales constituent un groupe très hétérogène de pathologies. Plusieurs termes ont été utilisés pour les désigner notamment paraprotéïnémies, dysprotéïnémies ou immunoglobulinopathies. Les GM appartiennent au groupe des hémopathies malignes. Il s'agit de désordres caractérisés par une expansion anormale et incontrôlée d'un clone unique de lymphocytes B, de lymphoplasmocytes ou de plasmocytes sécrétant des immunoglobulines identiques dites monoclonales.

Elles sont associées à diverses pathologies incluant le myélome multiple, la macroglobulinémie de Waldenström, l'amylose AL et les gammopathies monoclonales de signification indéterminée (GMSI) ou MGUS. Le myélome multiple est une hémopathie maligne caractérisée par une prolifération médullaire incontrôlée d'un clone plasmocytaire. Ces plasmocytes tumoraux produisent une immunoglobuline monoclonale ou des fragments d'immunoglobuline monoclonale (chaînes légères libres) qui peuvent être décelés dans le sang et/ou dans les urines.

Les manifestations cliniques et les complications de la maladie sont très variables d'un patient à l'autre. Certains sont asymptomatiques alors que d'autres développent le plus souvent des atteintes osseuses, compliquées de tassements vertébraux, fractures pathologiques...

Le composant monoclonal est le plus souvent une immunoglobuline entière qui ne diffère en rien d'immunoglobuline normale (IgG, IgA, IgM, IgD ou IgE.). Il peut également s'agir d'un fragment d'immunoglobuline, soit une chaîne légère libre (CLL) monoclonale non associée à une chaîne lourde (appelée protéine de Bence JONES) ou plus rarement d'une chaîne lourde isolée.

Le diagnostic des gammopathies monoclonales repose sur des examens cliniques, radiologiques, biologiques et immunologiques, parmi les outils de diagnostic immunologique : l'électrophorèse de protéines sériques (EPS), l'immunofixation des protéines sériques et le dosage urinaires (protéinurie de Bence JONES) et sériques des chaînes légères libres (FLC). Les conséquences du MM sont graves puisque, malgré les progrès thérapeutiques réels de ces dernières années, la rechute de la maladie est toujours inéluctable, et le MM reste une maladie incurable à l'heure actuelle.

PARTIE THEORIQUE

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 premier rapport sur le myélome multiple a été décrit sous l'acronyme « mollities ossium » en 1844 par Samuel Solly. Il a caractérisé deux patients présentant des symptômes comme la fatigue, des douleurs osseuses et des fractures multiples. [

1889 : Otto KAHLER publié pour la première fois une description clinique détaillée du myélome Multiple ; d'où le nom de « maladie de Kahler

En 1900, James H. Wright conclut que les cellules impliquées dans le myélome multiple sont essentiellement des plasmocytes.

En 1956, Korngold et Lipari ont déterminé que les patients atteints de myélome présentaient souvent une « homogénéité électrophorétique » des protéines de Bence Jones, qui serait plus tard montré à être identiques aux protéines dans le sérum des mêmes patients. Ces protéines monoclonales correspondaient à l'une des deux chaînes légères d'immunoglobuline qui ont été nommées kappa et lambda d'après Korngold et Lipari.

à-**1953** : l'immunoélectrophorèse est une technique qui a permis l'identification exacte des protéines monoclonales myélomateuses. Depuis, l'immunofixation a été introduite comme étant une méthode plus sensible

-**1956** : Korngold et Lipari rapportent que les protéines de Bence Jones ont un lien avec les gammaglobulines sériques normales et les protéines sériques anormales. En leur honneur, les deux types de protéines de Bence Jones sont appelés kappa (κ) et lambda (λ).

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*).

-2015-2020 : Bien que les résultats se soient considérablement améliorés pour les patients atteints de myélome multiple (MM) au cours des vingt dernières années, la maladie reste incurable avec un traitement standard. Le paradigme de traitement actuel pour MM nouvellement diagnostiqué (NDMM) consiste donc à conduire la maladie dans la rémission la plus profonde possible et à maintenir ensuite cette réponse avec un traitement de maintenance continu. Avec dix ans de suivi depuis l'avènement de cette approche, la thérapie d'induction combinée avec le Melphalan à forte dose (HDM) et la transplantation autologue de cellules souches (ASCT), suivie par le lénalidomide a permis une survie médiane de près de 50% à 10 ans (**Diamond B, 2020**).



Figure 01 : Le médecin tchèque Otto Kahler, né le 8 janvier 1849 à Prague, décédé à Vienne le 24 janvier 1893.

Chapitre I : LES GAMMAPATHIES MONOCLONALES.

-Gammopathies monoclonales:

1. Définition :

Gammopathie monoclonale(GM) est définie par la présence dans le sérum et/ou les urines d'une immunoglobuline monoclonale caractérisée par un seul type de chaîne lourde surtout IgG et IgM, plus rarement IgA voire IgD et IgE, et un seul type de chaîne légère (Kappa ou Lambda) parfois incomplète.

La présence d'une GM ou dyscrasies plasmocytaires sont des maladies néoplasiques ou potentiellement néoplasiques témoigne de la prolifération d'un clone de plasmocytes producteur d'une Ig monoclonale. Elle peut être révélatrice d'une hémopathie maligne, mais le caractère monoclonal n'est pas synonyme de malignité. (*Andrès., 2013*)

Ces Ig monoclonales sont appelées communément protéines M myélomateuses ou paraprotéines.

Ig monoclonal : Les règles du réarrangement de l'expression des gènes codant les immunoglobulines font qu'un plasmocyte ne sécrète qu'une forme moléculaire d'immunoglobuline, homogène par son isotypie (un seul type de chaînes légères une seule classe et éventuellement sous-classe de chaîne lourdes), son allotypie et son idiotypie. Les molécules d'immunoglobulines sécrétées par un clone unique ont toutes la même séquence en acides aminés ; leur charge nette est donc homogène, contrastant avec l'hétérogénéité de charge des immunoglobulines normales*[1]. Lorsque cette immunoglobuline monoclonale est assez abondante, ceci se traduit par une bande étroite (ou " pic ") sur l'électrophorèse de zone des protéines, au lieu de l'aspect diffus des immunoglobulines polyclonales. *[2]

2. Classification

La présence de signes cliniques évocateurs ou la découverte fortuite d'un pic Monoclonal à l'électrophorèse des protéines imposent la réalisation d'examen complémentaires afin de classer la gammopathie monoclonale, qui peut être « bénigne » ou maligne.

2.1. Gammopathies monoclonales dites « bénignes »

2.1.1. Gammopathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI)

La gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS) est une GM sans aucun signe clinique ou biologique des hémopathies malignes, elle est définie par la présence d'une (Ig) monoclonale dans le sérum à une valeur inférieure à 30 g/l en l'absence de lésions osseuses, d'anémie, d'hypercalcémie ou d'insuffisance rénale liée à une prolifération de plasmocytes monoclonaux et moins de 10% de plasmocytes médullaires monoclonaux. La GMSI doit être considérée non pas comme une maladie authentiquement bénigne mais comme une situation pré-maligne [3] dont l'évolution vers une pathologie maligne peut apparaître après parfois de très nombreuses années, le risque de transformation maligne est estimé à 15% à 10 ans et 30% à 20 ans [4]. Cela impose l'instauration d'une surveillance clinique au long cours.

2.1.2 Myélome non excréteur

Des signes cliniques évocateurs de myélome associés à une absence de pic monoclonal, une hypogammaglobulinémie et une VS normale font suspecter la rare possibilité d'un myélome non sécrétant. Le diagnostic ne peut en être fait que par l'analyse en immunofluorescence directe des plasmocytes médullaires obtenus par ponction. Le prélèvement de moelle est fait sur tube hépariné, et les frottis sont réalisés après sédimentation sur macromolécules de dextran (type Plasmion® ou Gélofusine®) et lavages. Le simple frottis à visée hématologique est inutilisable.

2.1.3 Autres

Plusieurs situations peuvent être à l'origine de la découverte d'un pic monoclonal à l'électrophorèse dont les infections, les déficits immunitaires constitutionnels ou secondaires à un traitement immunosuppresseur, les maladies hépatiques, les maladies auto-immunes, les maladies dermatologiques, la maladie de Gaucher, l'amylose AL (à chaînes légères) et les neuropathies périphériques sensitivomotrices [5].

2.2. Gammopathies malignes (liées à une hémopathie)

2.2.1 Myélome multiple

Parmi les hémopathies avec gammopathie monoclonale, le myélome est la pathologie la plus fréquente [6]. Son diagnostic est posé sur l'association d'une prolifération plasmocytaire médullaire avec présence de plasmocytes dystrophiques, même en petit nombre ; et d'une Ig monoclonale dans le sang et ou les urines ; et de signes cliniques évocateurs dont l'atteinte osseuse [3].

2.2.2 Macroglobulinémie de Waldenström

Cette maladie associe une prolifération lymphoplasmocytaire clonale polymorphe, comportant lymphocytes, lymphoplasmocytes et plasmocytes, et la sécrétion d'une IgM monoclonale retrouvée dans le sérum [3], la protéinurie de Bence Jones est le plus souvent négative ou très faible [7]. Les signes cliniques sont représentés par une altération de l'état général et une hypertrophie ganglionnaire ; splénique et hépatique [6].

2.2.3 Leucémie lymphoïde chronique (LLC)

C'est une prolifération monoclonale de siège médullaire et sanguin de lymphocytes B matures qui sont le plus souvent normaux morphologiquement, mais anormaux sur le plan fonctionnel. Elle se traduit pas un syndrome tumoral associant adénopathies, splénomégalie, hépatomégalie ; et une Ig monoclonale (IgM dans 10% des cas) [6].

2.2.4 Gammopathies biclonales

L'observation de proliférations biclonales n'est pas exceptionnelle : le partage d'une même chaîne légère, et mieux d'idiotypes lorsque ceux-ci sont étudiés, est en faveur d'une origine commune aux deux clones. Plus fréquemment dans les lymphomes que dans les myélomes, il peut être observé des mutations somatiques dans les régions VH et VL, comme c'est le cas au cours de la lymphopoïèse B normale. Il peut arriver que les deux Ig monoclonales, pour des raisons de charge, soient de migrations rigoureusement superposables (un seul pic, mais possibilité de réaction avec les deux antisérums anti-chaîne légère, k et l, ce qui pose des problèmes d'interprétation au biologiste non averti) (figure 2).

2.2.5 Traces oligoclonaux

De petites anomalies homogènes au nombre de 3 à une dizaine constituent le profil oligoclonal qui n'a pas la signification péjorative d'une anomalie monoclonale, et qui sont d'autant plus fréquentes que les sujets sont plus âgés et les méthodes de détection plus sensibles. Dans le liquide céphalorachidien ce profil particulier traduit une synthèse locale d'Ig et par conséquent un processus anormal évocateur de sclérose en plaque, pan-encéphalite sclérosante, viroses, syphilis, SIDA...

2.2.6 Autres hémopathies

D'autres hémopathies peuvent s'accompagner d'une Ig monoclonale comme certains types de lymphomes non Hodgkiniens, notamment le lymphome de Burkitt et les lymphomes de MALT et de la zone marginale [3], ainsi que la leucémie à tricholeucocytes [5].

2.2.7 Maladies des chaînes lourdes

À part de rares cas de maladie des chaînes lourdes g (MCHg) où la protéine monoclonale polymérique ne passe pas dans les urines, les protéines des MCH ont pu être isolées des urines. Après analyse de leur structure, on a pu constater qu'elle est anormale en général du fait de délétions internes et de l'absence de chaîne légère.

On parle alors de maladie des chaînes lourdes dont trois types sont décrits, chacun lié à l'expression d'une classe différente de ces chaînes :

- maladie de chaînes lourdes g : qui s'accompagne dans la moitié des cas de fatigue, d'amaigrissement, d'hépatosplénomégalie et adénopathies. La biopsie ganglionnaire peut montrer un lymphome ou plus souvent révéler une prolifération proche de celle de la MW. Il existe une fréquence particulière de maladies auto-immunes et d'auto-anticorps. Les formes apparemment primitives ne sont pas rares.
- maladie des chaînes lourdes a : la forme digestive, la plus fréquente, s'observe dans les régions à forte endémie d'infections entériques (pourtour méditerranéen, Moyen Orient, Amérique latine, etc.). Elle est caractérisée initialement par une infiltration diffuse plasmocytaire ou lymphoplasmocytaire produisant une chaîne a toujours de sous-classe a1 (première phase) qui évolue spontanément vers un lymphome agressif. Malgré la présence d'anomalies cytogénétiques (translocations notamment), le stade initial peut être curable par les tétracyclines.
- maladie des chaînes lourdes μ : Il s'agit dans la moitié des cas de leucémie lymphoïde chronique particulière par la présence de plasmocytes vacuolés sur le frottis médullaire qui doit alerter le cytologiste.

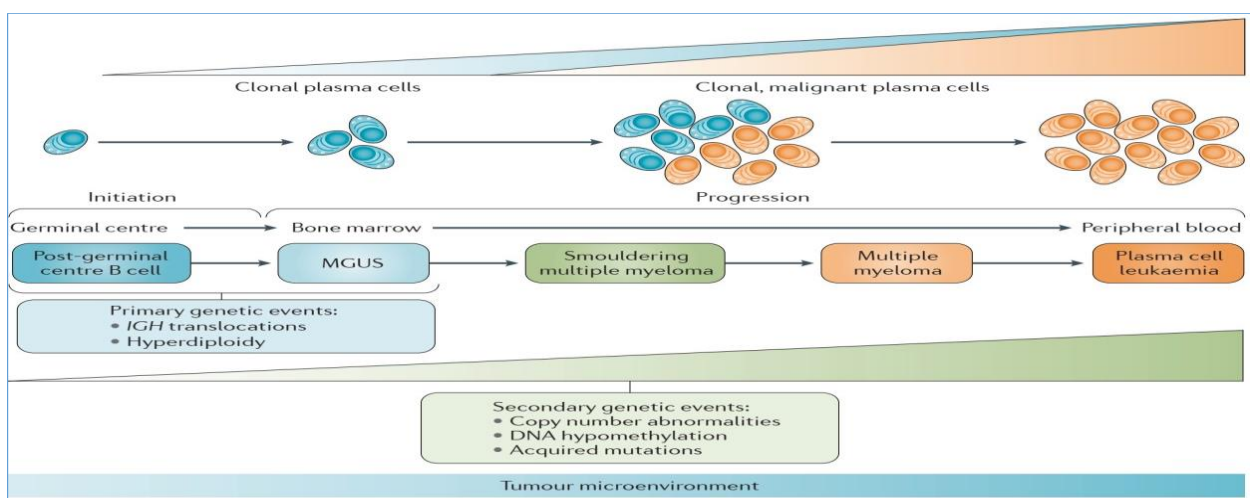


Figure 02 : modèle de progression des gammopathies monoclonales

II. Myélome multiple:

1. Définition :

Le myélome multiple (MM) ou maladie de Kahler est une hémopathie maligne caractérisée par une prolifération clonale de plasmocytes médullaires envahissant la moelle hématopoïétique (figure 01) et sécrétant le plus souvent une immunoglobuline qualitativement normale, homogène, monoclonale complète (IgG, IgA, IgM et rarement IgD et IgE) ou un fragment de cette immunoglobuline (chaîne légère kappa ou lambda), véritable marqueur Tumoral quantifiable dans le sang et l'urine *[8]

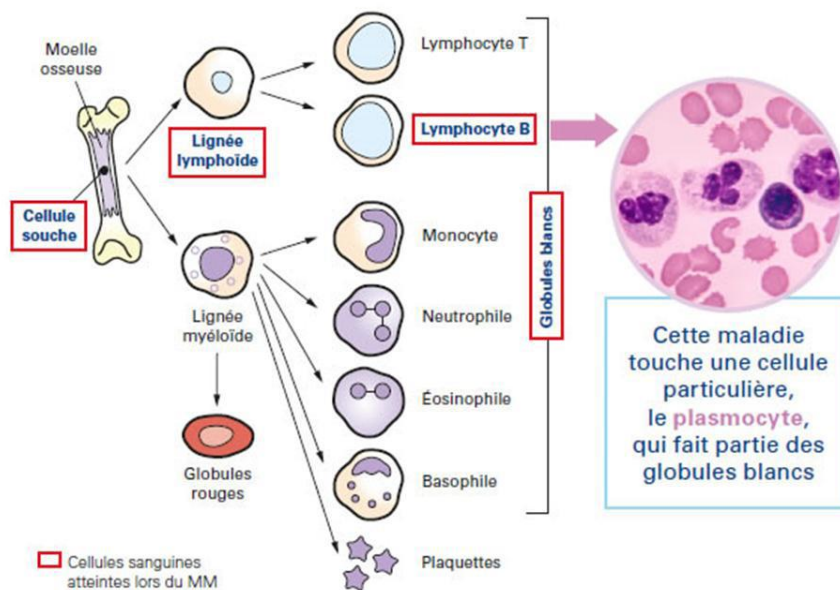


Figure 03 : Tumeur à cellule B mature: développement de la cellule myélomateuse (Anonyme, 2017).

C'est une affection relativement fréquente qui touche avec prédilection les sujets d'âge mûr (environ 60 ans). Le retentissement clinique et biologique est variable, il est directement lié à la masse tumorale et aux produits d'excrétion du clone tumoral : immunoglobuline monoclonale et cytokines (Moreau, 2019).

2. EPIDEMIOLOGIE :

L'incidence :

Selon les dernières statistiques de l'Observatoire mondial du cancer (GLOBOCAN), 176 404 cas de MM ont été estimés dans le monde en 2020, soit 0,9 % de tous les cancers. Environ 90 000 de ces cas étaient des hommes et 70 000 étaient des femmes, ce qui équivaut à une incidence normalisée selon l'âge de 2,2/100000 et de 1,5/100000 respectivement. Le risque cumulatif

d'être diagnostiqué de la naissance à 74 ans est de 0,25 % chez les hommes et 0,17 % chez les femmes, ce qui rend la maladie environ 1,5 plus probable chez les hommes. L'incidence de MM augmente dans le monde développé avec la plus forte incidence en Australie, en Europe occidentale et aux États-Unis [4].

En Algérie, l'incidence annuelle est 0.98/100.000 habitants avec un âge médian au diagnostic de 60 ans selon le premier congrès maghrébin d'hématologie en 2013[5].

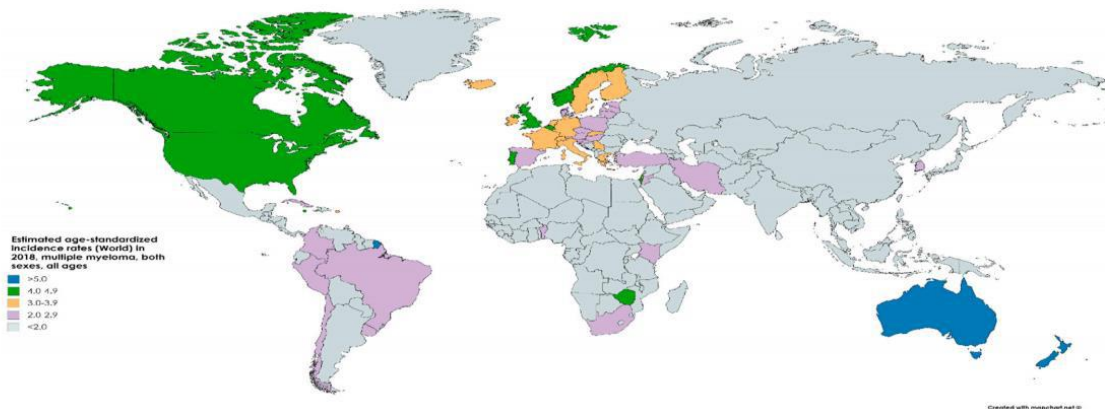


Figure 04 : Une Carte montrant les taux d'incidence standardisés selon l'âge du myélome multiple dans le monde en 2018[5].

La mortalité :

En 2020, 117077 décès dans le monde par le MM ont été estimés, ce qui représente 1,1 % de tous les décès par un cancer [4].

L'âge :

Le myélome multiple est un néoplasme des sujets âgés dont l'âge médian au moment du diagnostic est 69 ans aux États-Unis. Plus de 60% des diagnostics sont effectués chez des sujets de plus de 65 ans [4].

Le sexe :

Il est environ 1,5 plus fréquent chez les hommes que chez les femmes dans le monde. Le tabagisme, la consommation d'alcool et l'obésité chez les hommes sont des facteurs de risque potentiel, mais aucun de ces facteurs de risque ont été prouvés en MM [4].

La race :

Il est plus de deux fois plus fréquent chez les Afro-Américains avec une incidence de 16,5 / 100 000 chez les hommes et 12,0 / 100 000 chez les femmes (contre 8,2 / 100 000 et 5,0/ 100 000, respectivement, pour les Caucasiens). Les Asiatiques et les insulaires du Pacifique couraient un risque moindre, à 5,0/ 100 000 et 3,2/ 100 000 pour les hommes et les femmes, respectivement[4].

L'histoire familiale :

Une étude rétrospective a constaté que l'Odds Ratio du MM chez les parents au premier degré était de 1,90, (IC à 95%: 1,26 à 2,87).

Le myélome multiple en Algérie :

Selon les statistiques de l'année 2013, près de 2.000 Algériens souffrent de myélome multiple, avec une incidence de 1.1% pour 100.000 habitants, selon les résultats d'une enquête nationale, exposée lors du 10ème congrès maghrébin d'hématologie, organisé du 23 au 25 mai 2013 à Oran.

L'étude rétrospective, effectuée sur 6 ans (2006-2012), a relevé 1.938 patients atteints de myélome multiple. Environ 500 patients ont été diagnostiqués à l'est du pays, soit (26%), 1.054 (54.4%) dans la région centre et 388 patients à l'ouest, a-t-on indiqué, de même source. La moyenne d'âge des malades est de 63 ans, avec des limites entre 22 et 96 ans, a-t-on ajouté.

Probablement, en raison de l'utilisation répétée des pesticides, les travailleurs de la terre sont les plus touchés, avec 13%, les maçons viennent en deuxième place, avec près de 9%. Les médecins, les dentistes et les infirmiers sont touchés à moins de 1%, relève la même étude.

L'étude signale, selon l'oratrice, une augmentation du nombre d'atteints de cette affection diagnostiqués. Par rapport à la première, effectuée sur 12 ans, qui a décelé 1.515 malades, cette étude, sur six ans, a montré une augmentation du nombre de malades. Néanmoins, il reste inférieur au taux enregistré dans les pays occidentaux, estimé entre 4 à 7% sur 100.000 habitants. En outre, il a été relevé, dans cette enquête, l'apparition de la maladie chez un jeune de 22 ans, a indiqué Mme Saïdi. (*Santé MAG.*, 2013).

3.étiologie:

- L'étiologie du myélome multiple n'est pas connue. Il existe de rares cas familiaux et conjugaux, et une fréquence plus élevée chez les Afro-américains, bien que plusieurs études aient évalué les facteurs de risque potentiels de cette maladie.

La prédisposition génétique :

Plusieurs études ont montré un risque 2 fois plus élevé de développer une GMSI ou un myélome multiple chez les parents du premier degré [9]

L'obésité :

Une étude a examiné le lien entre l'IMC et le risque de progression de MGUS vers un MM. Elle a montré que les patients obèses et en surpoids ont un risque plus élevé de transformation de MGUS en MM que les patients de poids normal [10].

Les radiations ionisantes :

Une étude a montré que l'exposition à des rayonnements atomiques, Hiroshima et Nagasaki, était un facteur prédisposant au développement de GMSI. La progression de MGUS en MM a été plus rapide chez les personnes exposées [11] [12].

Les pesticides :

Les agriculteurs ont une incidence plus élevée de myélome multiple par rapport à la population générale. Une étude a identifié des associations avec le MGUS pour plusieurs pesticides, y compris les insecticides organochlorés aldrine et dieldrine, l'huile de pétrole/distillats et la perméthrine, un insecticide pyréthroïde largement utilisé [13].

Les solvants organiques :

Le benzène, le toluène et le xylène sont associés à un risque élevé du MM [14].

Les facteurs infectieux :

Une réponse immunitaire perturbée suite une infection peut induire l'apparition et/ou la progression de MGUS vers un MM. De nombreux néoplasmes des cellules B matures sont liés à des infections par des agents pathogènes intracellulaires comme le virus Epstein-Barr (VEB), le virus de l'hépatite C (VHC) ou Helicobacter pylori. Toutefois, l'association entre l'infection et la sécrétion d'immunoglobuline monoclonale reste non connue [15].

Il existe de rares formes familiales. On constate en effet que dans les familles où un membre est (ou a été) atteint d'un myélome, les autres membres de la famille ont un risque plus élevé d'être touchés. Ceci dit, dans la grande majorité des cas de myélome, on ne retrouve pas d'antécédents familiaux. [16]

4. physiopathologie:

4.1. Origine de l'évènement transformant :

4.1.1- anomalies cytogénétiques :

La prolifération tumorale fait intervenir progressivement plusieurs évènements oncogéniques de la lignée lymphocytaire B: translocations t(11 ;14), t(4 ;14), t(14 ;16) t(6 ;14) ; délétion du chromosomiques 13, mutations de N-ras, K-ras et p53 à l'origine de dérégulation du cycle cellulaire, de l'apoptose et de modification du stroma environnant.

Caryotype: difficile à réaliser, anomalies chez moins de 30% des patients

FISH: examen de référence, nécessite d'avoir des sondes

Hyperdiploïdie (55%):

48 à 60 chromosomes

Bon pronostic

Gains chromosomique récurrents 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19,21

Rareté réarrangements chromosomiques (10%)

Non hyperdiploïdie:

70% réarrangements **gène IgH en 14q32**

Translocation avec partenaire >> uprégulation des gènes cibles:11q13(CCND1) 20%,
4p16(FGFR3) 15%,

Autres anomalies récurrentes : monosomie 13 ou de113q (50%), gain 1q (30%), del **17p**
(10%)

Tableau 01 : Valeur pronostique des principales anomalies chromosomiques

Anomalies génétiques	Valeur pronostique
Del (17p)	High Risk
Del(1p32)	High Risk
t(4 ; 14)	Intermediate Risk
1g gain	Intermediate Risk
t(11 ; 14)	Neutral

4.1.2-analyse cytogénétique par FISH:

-marqueurs cytogénétiques recherchés:

-**del17p** (10%) p53

-**t (4;14)** (12-14%) (Cryptique au caryotype) IgH-FGFR3/ MMSET.

-t(11;14) (20%) IgH-cycline D1, hyper-expression cycline D1

-hyperdiploïdie

-**c-myc** (15%)

-**t(14;16)** (2-10%) (Difficile a détecter au caryotype) IgH-c-maf, hyperexpression de c-maf

-**del13q ou monosomie 13** (45-50%), associée à l'hypodiploïde

- +1q (30-35%)

- del1p (10-30%)

4.1.3-anomalies recherchées en routine:

- t(4;14)
- Del17p (p53)
- +1q éventuellement

4.1.4-séquençage à haut débit :

whole genome ou exome sequencing: séquençage de 21416 gènes codant des protéines et 1664 miR == mutations, insertions, délétions, amplifications (par comparaison génome tumoral / germ line)

Définition de quelques mutations "récurrentes" (aucune n'est retrouvées chez plus d'1/4 des patients et la plupart sont présentes chez moins de 10% des patientes) **CCND1, NRAS, KRAS, BRAF, TP53** et **FAM46C**

-moyenne de **52 mutations/patients** (Bolli N, avet-loiseau H, Wedge DC, et al. *Heterogeneity of genomic evolution and mutational profiles in multiple myeloma. Nat. Commun. 2014 ; 5 :2997*), série de 84 échantillons issus de 67 patients

MAIS les gènes mutés ne seraient que peu exprimés !!!

Etude des séquences d'ARN en parallèle de l'exome sequencing sur une série de 14 prélèvements issus de 10 patients : étude de l'expression des différents allèles (mutés vs non mutés) [17].

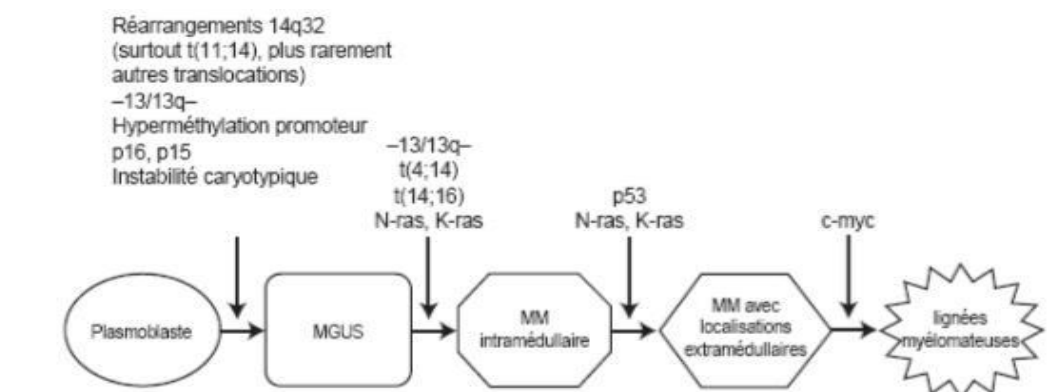


Figure 05 : les anomalies génétiques chromosomiques identifiées dans la pathogénie du MM. (Charlot-Lambrecht, 2011).

Cependant, nous devons garder à l'esprit que les modèles pronostiques ne sont valables qu'avec une approche thérapeutique spécifique. Par exemple, notre modèle était principalement

construit sur des patients recevant une greffe après une induction par VAD (vincristine-adriamycine-dexaméthasone) ou BD (bortézomib-dexaméthasone),
 Sans aucune phase de consolidation ou de maintenance. Pour tester la stabilité de notre modèle pour les patients traités avec des approches plus modernes, nous l'avons appliqué dans l'essai IFM2009. Ces patients ont reçu une induction par le bortézomib-lénalidomide-dexaméthasone, du melphalan à haute dose (pour la moitié d'entre eux), une consolidation et un entretien par lénalidomide. Nous avons confirmé sa capacité à détecter trois groupes de patients, Avec cependant une amélioration très significative des courbes de survie globale dans les trois groupes [7]

4.2. Mécanismes de signalisation dans les cellules myéломateuses : Stimulation par l'environnement :

Le myélome multiple est caractérisé par une accumulation de plasmocytes tumoraux dans la moelle osseuse. Ces plasmocytes présentent de nombreuses anomalies cytogénétiques qui ne sont pas suffisantes pour induire leur survie et leur croissance. Ces plasmocytes tumoraux restent dépendants de l'environnement médullaire. Ce microenvironnement exprime des molécules d'adhésion et synthétise des cytokines indispensables à la croissance du clone

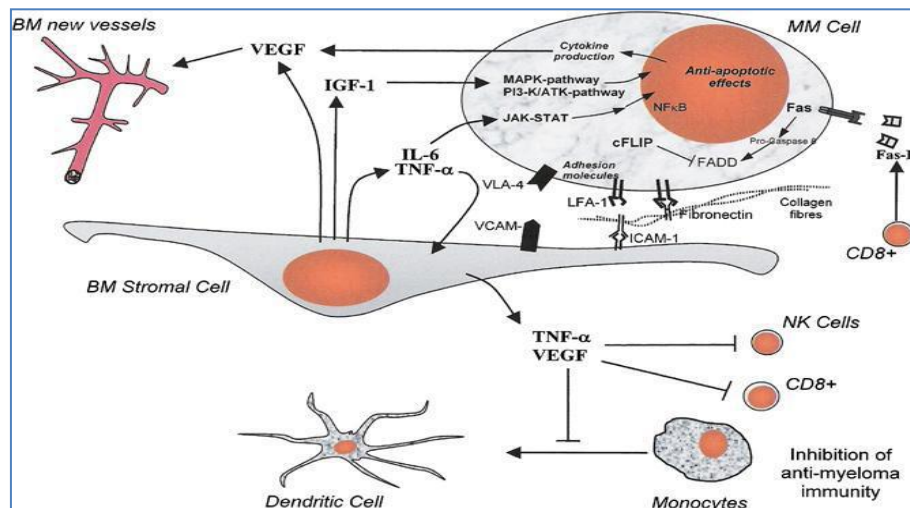


Figure 06 : Interactions entre les cellules du MM et le micro environnement médullaire Myéломateux.

4.3. Rôle des molécules d'adhésion, cytokines, et des cellules stromales de la MO dans le MM :

L'adhésion des plasmocytes malins au cours du MM aux cellules stromales de la moelle osseuse déclenche la sécrétion de cytokines à médiation cellulaire nommés (cytokine-mediated tumour cell growth), qui favorisent la survie, et la migration des plasmocytes.

Les cytokines secrétées à la fois par les cellules stromales et par les plasmocytes malins (préalablement stimulées par les cellules stromales) vont activer plusieurs voies de signalisation cellulaire qui restent des cibles thérapeutique potentielles (*Géraldine., 2006*)(la voie JAK/STAT, MAPK , PI-3K/Akt , NF-kB).

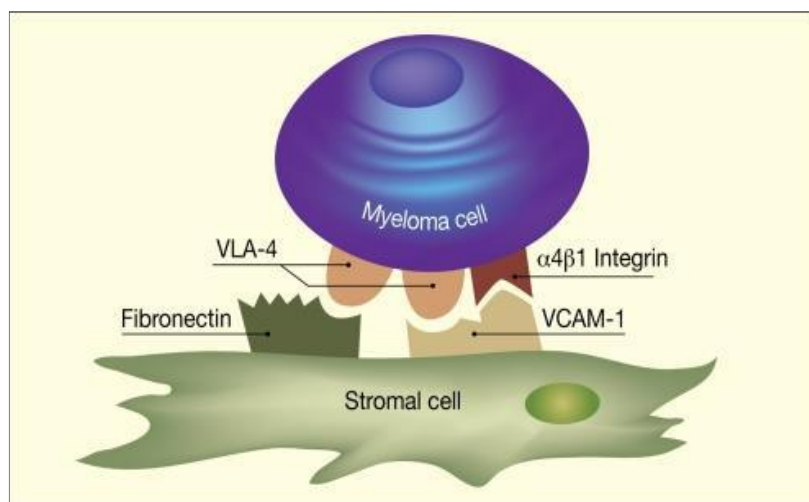


Figure 07 : l'adhésion de la cellule de myélome à la cellule stromale de la moelle osseuse
(*Touaoussa.,2015*)

5. Types de MM :

De grandes études de registres ont confirmé que le MM symptomatique est constamment précédé d'une phase asymptomatique définis par la présence d'une protéine monoclonale dans le sérum et/ou d'une prolifération plasmocytaire médullaire excessive, en absence des critères cliniques et biologiques de myélome multiple symptomatique : (**Touzeau, 2013**) Il existe un consensus de l'IMWG (2009) sur les paramètres pronostiques à analyser au moment du diagnostic de myélome (**Manier &Leleu, 2011**).

- « Un état prémyélomateux » que l'on appelle « gammopathie monoclonale de signification indéterminée » (MGUS) :

Cette gammopathie est un trouble des cellules plasmatiques pré malignes cliniquement asymptomatique. (**Bumma, 2019**).

Dans le cas de MGUS, un pic monoclonal modéré est observé sans aucun signe clinique, radiologique ou biologique. La présence d'un MGUS est décelée chez 3 à 4 % de la population générale après 50ans. **(Manier & Leleu, 2011)**

Les principaux arguments qualifiant un MGUS sont :

- La taille du pic monoclonal (généralement < 30g/L) ;
- Une infiltration plasmocytaire osseuse < 10 % ;
- Le caractère asymptomatique **(Touzeau, 2013)**.

Les GMSI sont associées à un risque de progression vers un MM (ou une autre hémopathie lymphoproliférative telle que la maladie de Waldenström en cas de GMSI IgM) évalué à environ 1 % par an **(Isaacs, 2019)**.

La gammopathie monoclonale de signification indéterminée est généralement détectée comme une découverte fortuite lorsque les patients subissent une électrophorèse des protéines dans le cadre d'une évaluation pour d'autres conditions, telles que l'anémie ou l'hypercalcémie **(Bumma, 2019)**.

• **Un état « indolent » que l'on appelle « myélome indolent » :**

Le MI est défini ; chez un patient asymptomatique par la présence d'un pic monoclonal supérieur à 30 g/l ou d'une plasmocytose médullaire supérieure à 10 %.

Le MI représente un stade d'évolution intermédiaire entre la GMSI et le MM symptomatique. Le risque de progression d'un MI vers un myélome symptomatique est plus élevé, de l'ordre de 10 % par an les cinq premières années ; puis 3 % par an les cinq années suivantes, puis retrouve après dix ans un risque évolutif proche des GMSI de 1 % par an **(Espinosa, 2010)**.

5.1. Formes immunochimiques:

5.1.1. Myélome non sécrétant

Chez certaines personnes atteintes d'un myélome multiple, les cellules myélomateuses ne libèrent pas suffisamment de protéines M ou de chaînes légères dans le sang ou l'urine pour être détectées par électrophorèse des protéines **(TOUAOUSSA, 2015)**.

Le myélome non sécrétant est le plus trompeur biologiquement **(WEILL, 2013)**.

Par contre, ils ont un taux élevé de plasmocytes monoclonaux dans la moelle osseuse. Ils présentent en outre des plaintes liées au myélome multiple.

Le diagnostic ne peut en être fait que par l'analyse en immunofluorescence directe du frottis médullaire **(CHEVAILLER et al, 2001)**

5.1.2. Myélome sécrétant

L'immunoglobuline monoclonale est détectée dans 99% des cas de myélome multiple : IgG 50–60%, IgA environ 20%, chaînes légères 15%, IgD 2%, gammopathie biclonale 1%. Une protéinurie de Bence-Jonck est présente dans 75% des cas. Les myélomes multiples à IgE sont exceptionnels (**BAUR CHAUBERTA et al, 2005**).

➤ Myélome à chaînes légères

Le myélome à chaînes légères (10 à 20 % des cas) (**WEILL, 2013**). Cette entité clinique se définit par une augmentation de la concentration de CLL (κ ou λ), un rapport κ/λ perturbé et une absence d'expression de chaîne lourde monoclonale (**RIVIER, 2012**).

➤ Myélomes à isotype d'immunoglobuline rare

Il s'agit, des myélomes à IgD (2 % des cas) et d'exceptionnels myélomes à IgM ou IgE. Il existe aussi des MM biclonaux. Dans certains cas, l'immunoglobuline monoclonale précipite ou forme un gel au froid, correspondant à une cryoglobuline de type I (immunoglobuline monoclonale isolée) ou de type II (immunoglobuline monoclonale et IgG polyclonales) (**WEILL, 2013**).

5.2. Formes cliniques :

➤ Myélome multiple indolent

Le MM latent ou indolent est aussi appelé myélome asymptomatique puisqu'il n'engendre pas du tout de signes cliniques (**TOUAOUSSA, 2015**), (pas d'atteinte d'organe selon les critères CRAB) (**ZANDECKI, 2006**). Ce type de myélome se situe entre la MGUS et le MM symptomatique.

Le myélome multiple latent ou indolent peut être classé comme un myélome multiple de stade I si les caractéristiques sont les mêmes (**TOUAOUSSA, 2015**).

➤ Myélome multiple symptomatique

Nécessite une plasmocytose médullaire $\geq 10\%$, un pic Ig > 30 g/l, et l'atteinte d'au moins un organe, selon les critères CRAB (**ZANDECKI, 2006**).

FORMES PARTICULIÈRES

Dans environ 3 à 5 % des cas, le myélome se manifeste par l'atteinte d'une zone unique : on parle alors de plasmocytome solitaire. Il peut être situé dans un os

Ou dans les tissus mous.

Ces formes particulières peuvent évoluer vers un myélome multiple, le plus souvent

Dans un délai de 3 à 5 ans. Les traitements des plasmocytomes solitaires ne sont pas

Abordés dans ce guide.

6. diagnostic du myélome multiple :

Le diagnostic de MM est basé sur l'association d'une plasmocytose médullaire supérieure à 10 %, d'une immunoglobuline monoclonale sérique et/ou urinaire à titre significatif et de signes cliniques en rapport avec la prolifération plasmocytaire maligne. Bien qu'il reste à ce jour incurable, le MM a connu, ces dernières années, des progrès permettant une amélioration de la prise en charge des patients.

6.1. Présentation clinique :

Quelques présentations cliniques sont décrites sur le tableau suivant :

Le Myélome multiple représente 12% des cancers hématopoïétiques et il est classé le deuxième cancer du sang le plus courant après le lymphome non hodgkinien [17]. Son incidence est en augmentation et croît avec l'âge. Le pic de fréquence varie selon les pays de 65 ans à 70 ans, en faveur d'une légère prédominance masculine 58.6% contre 41.4% chez la femme avec un sexe ratio de 1.4

-Les signes révélateurs CRAB :

-Il existe différents signes révélateurs. Le médecin va en rechercher notamment quatre qui constituent les critères CRAB (C = calcium, R = rein, A = anémie et B = bone, os en anglais). Ceux-ci servent en partie à orienter la prise en charge qui consistera à débiter un traitement ou à mettre en place une surveillance active du patient.

-DES CRITÈRES POUR ORIENTER LA PRISE EN CHARGE:

Depuis 2016, l'International Myelome Working Group (le Groupe international de travail sur le myélome) qui rassemble chercheurs et médecins spécialistes du myélome du monde entier, a fixé de nouveaux critères en faveur d'un début de traitement (qui viennent en suppléments des critères CRAB) :

-la présence de plus de 60 % de plasmocytes anormaux dans la moelle osseuse ;

-l'identification à l'IRM d'au moins deux lésions osseuses de plus d'un centimètre ;

-la proportion de certains composés des anticorps par rapport à d'autres (ratio sanguin chaînes légères « kappa » et « lambda » >100).

La présence d'un de ces trois critères, même sans signe CRAB, peut conduire à débiter un traitement.*[18]

Tableau 02 : Présentation clinique du MM*

Présentation clinique	Description
État général	- L'altération de l'état général représente un des signes les plus fréquents au diagnostic.
Un syndrome anémique	- Une anémie
Manifestations osseuses	- des douleurs osseuses sont très fréquentes ; localisées ou diffuses (le rachis, le gril costal, le bassin... - des fractures pathologiques - des tassements vertébraux - des déformations (gibbosité : une déformation du thorax, scoliose: déformation de la colonne vertébrale) - Sur le plan radiologique l'aspect le plus caractéristique est celui des géodes.
Insuffisance rénale	- la précipitation de cylindres, formés de chaînes légères d'immunoglobulines et de protéines de Tamm-Horsfall, dans les tubules distaux (chez 50 % des patients).(S. Manier.,2011)
Syndrome infectieux	- un déficit de l'immunité humorale en lien avec une hypogammaglobulinémie, parfois profonde.
Risque thromboembolique	- plusieurs raisons : la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les plasmocytes tumoraux, la présence d'une immunoglobuline aux propriétés prothrombotiques. (Gyan., 2014)
Syndrome d'hyperviscosité	- Il s'observe lorsque le taux du composant monoclonal sérique (IgA ou IgG) est très élevé. (Gyan., 2014)

6.2. Démarche diagnostique du MM:

Lors de suspicion de myélome multiple, un certain nombre d'examen paracliniques sont indispensables pour confirmer et étayer le diagnostic

On distingue trois stades à valeur pronostique en fonction du taux de l'immunoglobuline Monoclonale sérique ou urinaire, le nombre de lésions osseuses squelettiques et les valeurs de l'hémoglobine, du calcium et de la créatinine.

6.2.1. Critères diagnostiques du myélome multiple:

Tableau 03 : Critères diagnostiques selon L'IMWG. (Manier & Leleu, 2011)

MM Symptomatique	<ol style="list-style-type: none"> 1. Plasmocytose médullaire $\geq 10\%$ 2. présence dans le sérum ou des urines d'une protéine monoclonale (sauf dans le cas d'un myélome non sécrétant présence d'une atteinte organique pouvant être attribuée à la prolifération plasmocytaire, particulièrement critères CRAB
MM Asymptomatique	<ol style="list-style-type: none"> 1. Prolifération plasmocytaire $\geq 10\%$ 2. ET/OU présence d'une protéine sérique monoclonale (IgG ou IgA) ≥ 30 g/l 3. absence d'une atteinte organique pouvant être attribuée à la prolifération plasmocytaire, particulièrement critères CRAB
MGUS	<ol style="list-style-type: none"> 4. Prolifération plasmocytaire $\geq 10\%$ 5. ET/OU présence d'une protéine sérique monoclonale (IgG ou IgA) ≥ 30 g/l 6. absence d'une atteinte organique pouvant être attribuée à la prolifération plasmocytaire, particulièrement critères CRAB

Tableau 04 : Critères de diagnostic établis par le Southwest Oncology Group [4].

Critères majeurs	Critères mineurs
<ul style="list-style-type: none"> -Plasmocytome sur biopsie tissulaire -Infiltration plasmocytaire monoclonale > 30 % -Présence d'une Ig monoclonale sérique (IgG > 35 g/L; IgA > 20 g/L) et/ou urinaire (chaîne légères libres et urinaires responsables d'une protéinurie de Bence Jones > 1 g/24 h en l'absence d'amylose) 	<ul style="list-style-type: none"> -Plasmocytose médullaire comprise entre 10 et 30 % - Pic monoclonal (IgG < 35 g/L; IgA < 20 g/L) et/ou protéinurie de Bence Jones < 1 g/24 h) - Diminution des Ig polyclonales inférieure à 50 % des intervalles de référence Lésions osseuses lytiques

Le diagnostic était confirmé si sont associées au moins un critère majeur et un critère mineur ou trois critères mineurs

- **Le myélogramme** : indispensable au diagnostic, l'os peut être friable à la ponction médullaire, l'analyse de la moelle montre une infiltration plasmocytaire 15%, l'aspect des plasmocytes peut être dystrophique : plasmocytes binuclés, à cytoplasme flammé, contenant des vacuoles ou corps de Russel ou des cristaux.

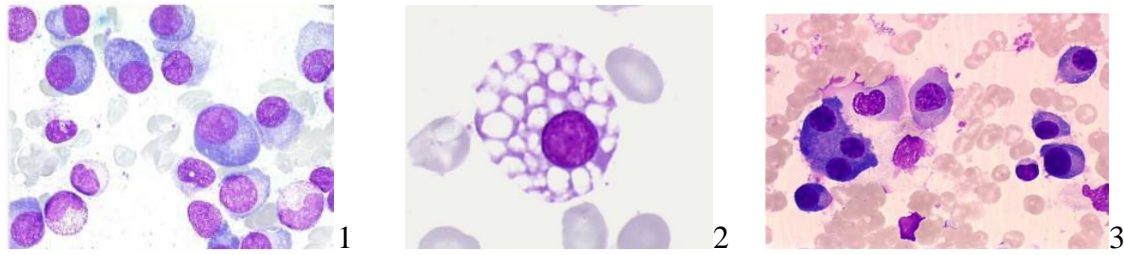


Figure 08 : 1/ hyperplasie plasmocytaire, 2/ plasmocytes à cytoplasme vacuolé et 3/ à triple noyau

6.2.2. Critères radiologique:

L'imagerie du myélome est souvent réalisée devant la survenue de complications pouvant être révélatrices de la maladie. Dans la mesure où la prolifération plasmocytaire maligne caractérisant cette maladie peut toucher l'ensemble du squelette osseux à des degrés divers, il convient de réaliser un bilan osseux aussi complet qu'il soit possible. On recherchera sur les clichés radiographiques des lésions lytiques ou des signes d'ostéopénie diffuse, ainsi que des complications fracturaires telles que des tassements vertébraux. L'imagerie en coupes a l'avantage d'être plus sensible et de bien montrer les extensions extra-osseuses. Avec le scanner et l'IRM, on peut rechercher une compression médullaire ou planifier un geste chirurgical, et avec l'IRM ou la TEP on peut évaluer l'extension de la maladie et la réponse au traitement*[19].

Sur ce bilan radiologique, près de 80 % des patients ont des lésions osseuses évidentes, affectant principalement le rachis dans 65 % des cas, les côtes dans 45 % des cas, le crâne dans 40 % des cas, les épaules dans 40 % des cas, le bassin dans 30 % des cas, et les os longs dans 25 % des cas. La détection de lésions au niveau des coudes, des genoux ou au niveau distal est exceptionnelle. Cela explique que des clichés distaux ne sont pas systématiquement réalisés.



Figure 9 : Fracture suite à une chute,



Figure 10 : Lésions osseuses Due à la fragilisation de l'os

IRM: Cet examen est devenu très important dans l'évaluation des lésions du myélome. Les avantages de l'IRM par rapport à la radiologie conventionnelle sont une plus grande

sensibilité, une imagerie extrêmement précise du squelette axial, une discrimination entre une moelle normale et une moelle envahie, un diagnostic très précis en cas de suspicion de compression médullaire ou de compression neurologique avec une très bonne visualisation des masses extra-médullaires, la visualisation de pathologies associées au myélome comme une amylose cardiaque, et également une importante valeur ajoutée sur l'évaluation de la réponse thérapeutique même si les lésions peuvent persister longtemps chez un malade en excellente réponse thérapeutique.

Scanner ou tomодensitométrie

La tomодensitométrie (TDM) apporte des informations utiles dans l'évaluation des lésions osseuses de l'hémopathie maligne. Cette technique est plus sensible que le bilan radiographique standard et beaucoup plus confortable puisque le patient est allongé sur un matelas sans manipulation (**Bonnaire, 2013**).

Avec une sensibilité nettement supérieure aux radiographies, la tomодensitométrie (TDM) montre les destructions osseuses liées au MM (**Azaïs, 2017**).

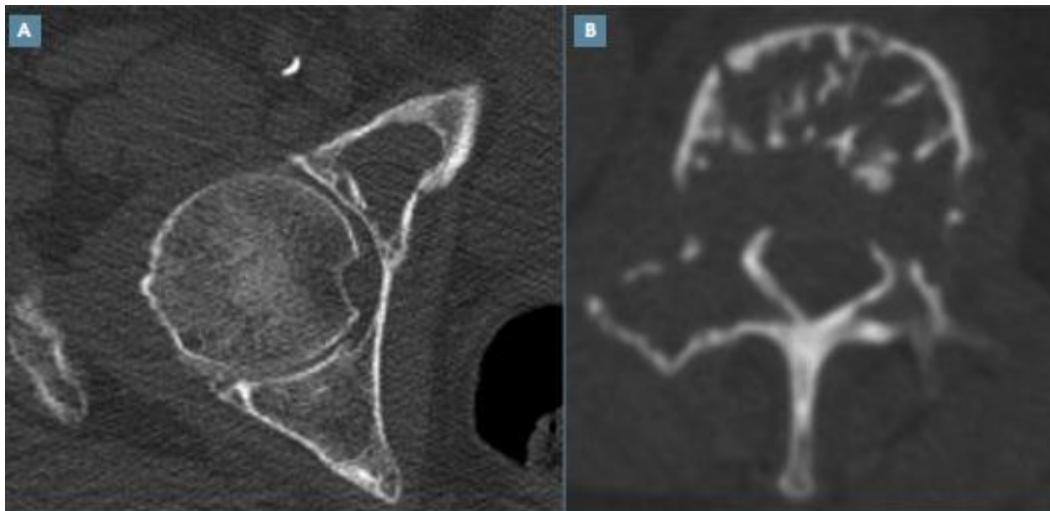


Figure 11 : Lésion au niveau de la cotyle droit ostéolytique légèrement soufflante (**Bonnaire, 2013**).

6.2.3. Critères hématologiques :

La production des cellules sanguines au sein de la moelle osseuse peut être diminuée, les plasmocytes anormaux se développant au détriment des autres cellules. Le myélome multiple peut donc être associé à une anémie (baisse du nombre de globules rouges). *[20]

-Numération formule sanguine (FNS) :

Elle montre une anémie chez environ 70 % des patients. Il s'agit souvent d'une anémie normochrome normocytaire arégénérative[21].

Le taux des leucocytes et des neutrophiles est généralement sans anomalie mais une thrombocytopénie est constatée chez environ 5 % des patients au moment du diagnostic [21].

Frottis sanguin :

L'observation la plus fréquente sur un frottis de sang périphérique est la formation des rouleaux des hématies. Exceptionnellement, des plasmocytes circulants peuvent être observés (Figures 12) [21]

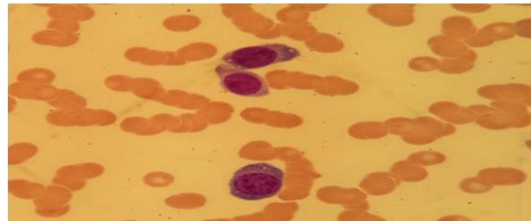


Figure 12 : Plasmocytes circulants avec des rouleaux érythrocytaires

6.2.4. Critères biochimiques :

La vitesse de sédimentation (VS) : est très augmentée, souvent supérieure à 100 mm la 1ère heure. Dans certains cas, la VS est peu ou pas élevée : myélome à chaîne légère ou au cours du myélome non sécrétant.

Une augmentation de la protidémie est fréquente parfois il peut être supérieure à 100 g/l.

Une augmentation de la C-réactive protéine (CRP > 6 mg/l), reflète le taux sérique de l'IL6, qui joue un rôle physiopathologique majeur dans le MM.

Une hyperprotidémie > 60 g/l, parfois pouvant dépasser 100 g/l.

Une hypoalbuminémie < 35 g/l est fréquente, conséquence du syndrome inflammatoire et éventuellement de l'insuffisance rénale. C'est un facteur de mauvais pronostic.

Le bilan phosphocalcique :

Une hypercalcémie > 100 mg/l ou 2,75 mmol/l est retrouvée chez 20 à 30 % des patients au diagnostic, conséquence de l'hyper-résorption osseuse.

Le bilan rénal :

L'atteinte rénale est évaluée par le dosage de la créatinémie sérique et la clairance à la créatinine.

Une créatinémie > 20 mg/l ou 175 µmol/l est présente chez 20% des patients au diagnostic.

Lactates déshydrogénases (LDH) :

Ce sont des marqueurs d'agressivité. Elles signent le caractère prolifératif du MM

Le dosage pondéral des diverses classes d'immunoglobulines montre une augmentation de l'immunoglobuline sécrétée par le clone plasmocytaire malin et une diminution, voire un effondrement des autres classes d'immunoglobulines. Il apporte surtout une information pronostique, puisque son taux est pris en compte dans la définition des stades de Durie et Salmon.

L'étude de la protéinurie des 24 heures est faite à la recherche de la protéinurie

De Bence-Jones. Elle correspond au passage dans les urines des chaînes légères libres caractérisée pour la première fois en 1848 par le médecin anglais Henry Bence Jones. (Touaoussa.,2015)

-Immunophénotypage des plasmocytes par Cytométrie en flux :

L'immunophénotypage par cytométrie en flux (CMF) multiparamétrique est une méthode sensible et spécifique pour la détection des plasmocytes anormaux [22].

Tous les PC expriment les marqueurs antigéniques CD138 et CD38. Les PC anormaux sont très majoritairement CD19 négatifs et dans plus de 70 % des cas sont CD56+, contrairement aux PC physiologiques qui sont CD19+/CD56-[22].

Différents antigènes peuvent être exprimés de façon aberrante à la surface des PC pathologiques : CD117, CD20, CD28, CD27, CD52, CD10 et plus rarement CD13, CD33 [22].

Par ailleurs, les PC perdent l'expression des immunoglobulines de surface. Ainsi, pour l'étude d'une dysglobulinémie monoclonale, l'EMN (European myeloma network) recommande l'utilisation d'un panel d'anticorps permettant la détection des antigènes CD19, CD56, CD20, CD117, CD28 et CD27 et préconise l'étude des chaînes légères des immunoglobulines intracytoplasmiques kappa(κ) et lambda (λ) afin d'évaluer la restriction isotypique[29].

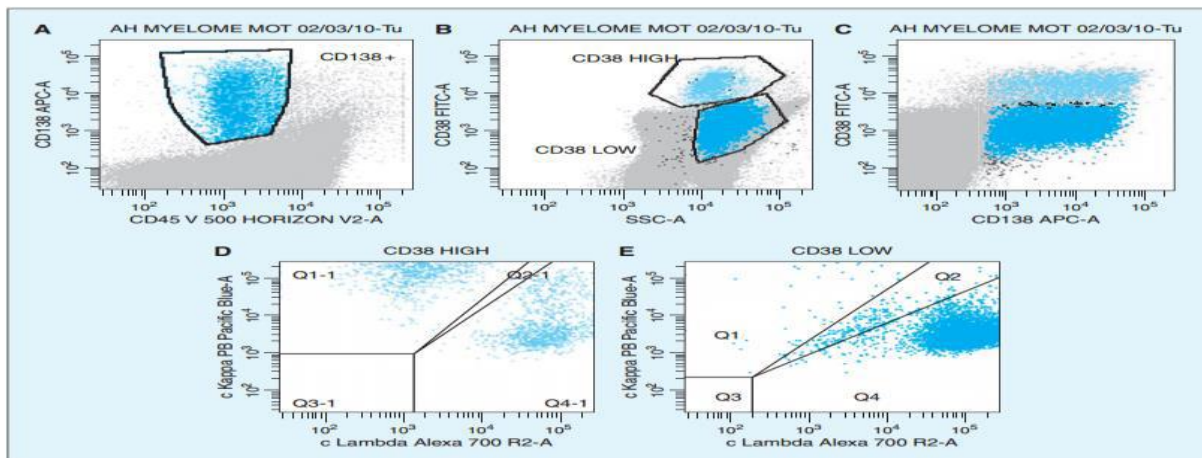


Figure 13: Analyse par CMF : exemple d'immunophénotypage médullaire mettant en évidence des plasmocytes pathologiques et physiologiques [23].

- LES CRITÈRES DIAGNOSTIQUES IMWG 2014 :

L'International Myeloma Working Group (IMWG) a publié, fin 2014, une actualisation des critères diagnostiques du MM avec l'ajout de trois critères de malignité permettant de proposer un

traitement précoce avant l'apparition des signes CRAB (hyperCalcémie ,Renal insufficiency , Anemia and Bone lesions) qui sont :

- une plasmocytose médullaire $\geq 60\%$
- un rapport kappa/Lambda ≥ 100 .
- au moins deux lésions focales osseuses à l'IRM.[24]

Le diagnostic de MM selon les critères de l'IMWG 2014 est défini par la présence d'une plasmocytose médullaire clonale $\geq 10\%$ ou d'un plasmocytome prouvé histologiquement, associée à au moins l'un des critères suivants :

- hypercalcémie ($> 0,25$ mmol/L par rapport à la normale ou $> 2,75$ mmol/L),
- insuffisance rénale (créatinine > 177 mmol/L ou Cl créatinine < 40 mL/min),
- anémie (Hb < 2 g/dL par rapport à la normale ou < 10 g/dL),
- ≥ 1 lésion ostéolytique sur le bilan d'imagerie (radiographies, scanner ou TEP)
- 1 lésion focale sur l'IRM
- plasmocytose médullaire clonale $\geq 60\%$,
- rapport κ/λ ou $\lambda/\kappa \geq 100$ (avec concentration de la chaîne légère monoclonale ≥ 100 mg/l) [24].

6.3. Bilan diagnostique du myélome multiple:

- Formule sanguine complète
- Myélogramme et biopsie de moelle osseuse
- Bilan radiologique du squelette (lorsque le patient est asymptomatique,

au minimum un crâne, une colonne dorsolombaire de profil, un bassin de face)

- Protéines totales
- Electrophorèse des protéines
- Immunofixation ou immunosoustraction (identification de l'immunoglobuline

Monoclonale)

- Dosages des IgG, IgA et IgM
- Créatinine sérique
- Calcémie
- Recherche d'une protéinurie de Bence-Jones (chaînes légères)

Rapport k / l urinaire

7. Complication:

Insuffisance rénale:

Les atteintes rénales sont fréquentes au cours des hémopathies malignes. Elles compliquent la prise en charge des patients et aggravent souvent le pronostic. L'atteinte rénale au cours du myélome multiple est plurifactorielle et laisse supposer plusieurs mécanismes pathogéniques dépendant pour une part du type du composant monoclonal. L'insuffisance rénale survient dans 18 à 60% des myélomes selon les études, et son caractère péjoratif est habituellement admis, en effet la médiane de survie des myélomes présentant une atteinte rénale est plus courte que celle des myélomes sans atteinte rénale [17]

L'insuffisance rénale touchera environ 50 % des patients au cours de leur maladie.

L'IR est une complication évolutive majeure du MM, présente dans environ 20 % des cas au diagnostic et survenant chez 50 % des patients au cours de l'évolution (**Constantin, 2018**).

L'immunoglobuline est soit complète, soit formée seulement d'une chaîne légère libre. Dans les deux cas, la quantité de CLL est anormalement élevée chez les patients atteints de ce cancer. Lorsque ces CLL en quantités excessives atteignent le rein et passent dans les glomérules, la capacité d'absorption des tubules proximaux est dépassée (**Figure 14**).

les CLL entrent alors dans les tubules distaux en association avec des protéines et précipitent sous forme de cylindres hyalins, conduisant à une obstruction tubulaire (**Morlon, 2010**)

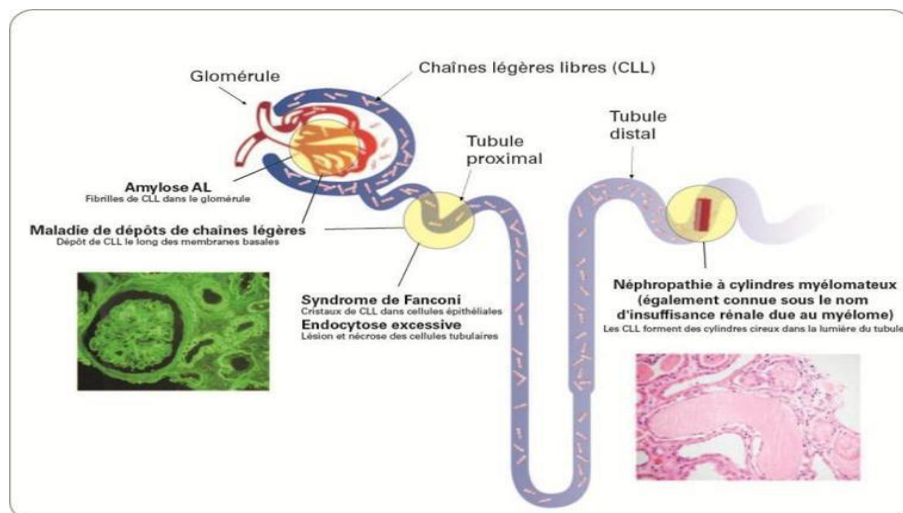


Figure 14 : Physiopathologie de l'atteinte rénale au cours du MM (**Anonyme, 2014**).

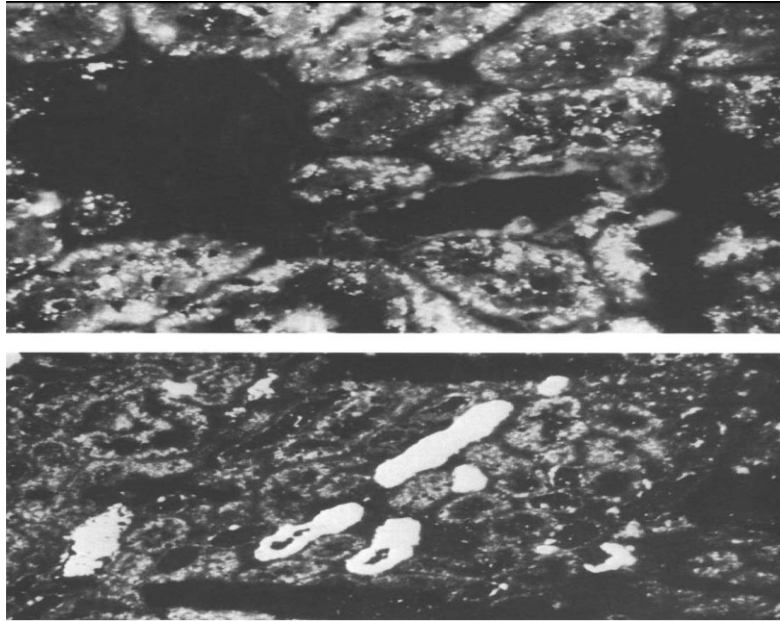


Figure 15 : Immunofluorescence. A Photomicrograph of renal immunohistology in series rat. Cytoplasmic and cast fluorescence with antilambda antisera are shown (magnification x600). B Photomicrograph demonstrating absence of immunofluorescence in the glomerulus (magnification x900).

Atteinte rénale :

Nous avons eu recours à plusieurs définitions pour apprécier l'atteinte rénale chez nos patients

*Le débit de filtration glomérulaire (DFG) a été estimé par la formule MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) : $186 \times (\text{créatinine } (\mu\text{mol/l}) \times 0,0113)^{-1,154} \times \text{âge}^{-0,203}$ chez l'homme et $\times 0,742$ pour les femmes

*L'insuffisance rénale aiguë (IRA) a été définie selon la classification de l'Acute Kidney Injury Network (AKIN) (tableau 5).

Tableau 05 : Stades de l'IRA selon classification de l'AKIN

Niveaux	Critères de la filtration glomérulaire	Débit urinaire
Stade 1	Créatininémie 1,5 à 2 fois supérieure à la valeur de référence, ou augmentation $\geq 0,3$ mg/dl dans un délai < 48 h	$< 0,5$ ml/kg/h pendant 6h
Stade 2	Créatininémie > 2 fois la valeur de référence	$< 0,5$ ml/kg/h pendant 12 h
Stade 3	Créatininémie > 3 fois la valeur de référence, ou créatininémie ≥ 4 mg/dl ou épuration extrarénale	$< 0,3$ ml/kg/h pendant 24h ou anurie de 12 h

*L'insuffisance rénale chronique (IRC) a été définie par un DFG inférieure à 60 ml/min/1,73 m² avec présence de marqueurs d'atteinte rénale depuis au moins 3 mois. Nous l'avons classé selon la classification Américaine de la National Kidney Foundation (NFK) (tableau 6).

Tableau 06 : Stades de la Maladie rénale chronique selon la classification NFK

Stades	Définition	DFG (ml/min/1.73m ²)
Stade 1	MRC avec DFG normal ou élevé	≥ 90
Stade 2	MRC avec diminution minimale du DFG	60-89
Stade 3	IR modérée	30-59
Stade 4	IR sévère	15-29
Stade 5	IR terminale	< 15

*Le syndrome néphrotique a été défini par une protéinurie ≥ 3 g/24h, une hypoprotidémie ≤ 60 g/l et une hypoalbuminémie ≤ 30 g/l.

Physiopathologie de la néphrotoxicité aiguë de la protéine de Bence-

Jones chez le rat:

L'insuffisance rénale aiguë au cours du myélome multiple est habituellement associée à une protéinurie de Bence Jones. Pour étudier la physiopathologie de cette situation, et pour élucider la néphrotoxicité des protéines filtrables en général, diverses protéines ont été perfusées à des rats mâles Sprague Dawley chez lesquels la fonction rénale a été étudiée par des techniques de clearances et des microponctions avant et après la perfusion. L'histologie rénale a été évaluée sur la base du nombre de cylindres distaux observés. La protéine de Bence Jones (BJP) utilisée a été isolée de l'urine de atteints de myélome multiple, en insuffisance rénale. Malgré l'expansion volumique la perfusion de BJP a été associée à une diminution de GFR à 60% des valeurs contrôles, à une protéinurie de Bence Jones et à la formation de cylindres tubulaires. La perfusion de bêta-lactoglobuline, une protéine filtrable de poids moléculaire semblable à celui des dimères de la BJP, mais avec un point isoélectrique plus bas, a aussi produit une

diminution de GFR (à 45% du contrôle) et la formation de cylindres tubulaires. Cependant la perfusion de chlorure de sodium 0,15 M, d'albumine (BSA), de myoglobine (une protéine filtrable dont le point isoélectrique est supérieur à celui de BJP) ou d'une protéine différente de BJP (isolée de l'urine urémique suivant la même technique que celle utilisée pour l'isolement de BJP) ou bien n'a pas produit de modification, ou bien a déterminé une augmentation de GFR et n'a pas entraîné d'altérations histologiques. Les rats perfusés avec de la BJP ont eu à la fois une diminution de GFR (55% du contrôle) et de SNGFR (57%) et une augmentation (167% du contrôle) de la pression tubulaire proximale (PTP) par comparaison avec les rats contrôles perfusés avec de la BSA. De plus, chez les rats perfusés avec BJP, il y avait une corrélation négative significative entre PTP et à la fois SNGFR et GFR du rein entier. La gradation histologique était positivement corrélée avec PTP et négativement avec à la fois GFR et SNGFR. Nous concluons que: (1) la perfusion de certaines BJP humaines diminue GFR chez le rat;

(2) l'obstruction tubulaire est un mécanisme important mais pas nécessairement unique;

(3) l'obstruction tubulaire est probablement le fait de cylindres intra tubulaires qui contiennent la BJP; et (4) les facteurs précis qui contribuent à la néphrotoxicité des protéines filtrables restent à déterminer mais ne peuvent être exclusivement liés à la charge de protéines filtrée ou au point isoélectrique Bence-Jones.

8. Pronostic:

Pour l'ensemble des patients atteints de myélome multiple, tous stades confondus, la médiane de survie est de 3 ans. Le pourcentage de patients encore en vie à 10 ans n'est que de 10%.

Les médianes de survie sont respectivement supérieures à 60 mois, de 41 mois et de 23 mois pour les stades I, II et III. Les patients avec insuffisance rénale ont une médiane de survie de 8 mois, contre 37 mois chez les sujets avec une fonction rénale normale. D'autres facteurs ont une valeur pronostique défavorable: l'importance de l'infiltration plasmocytaire de la moelle osseuse en biopsie, le caractère peu différencié des plasmocytes (plasmoblastes), l'expression de l'antigène Ki-67, certaines anomalies génétiques telles que les délétions 13q14 et 17p13.

Par la suite, des combinaisons de facteurs pronostiques ont été suggérées pour la classification des patients atteints de myélome [23].

Tableau 07 : La classification de Durie et Salmon

Stade I : Myélome de faible masse tumoral	Tous les critères suivants sont présents : - Hémoglobine >100 g/L - Calcémie < 120 mg/L (3 mmol/L) - Absence de lésion osseuse ou présence d'un plasmocytome osseux - Taux d'Ig monoclonale faible : * IgG < 50 g/L * IgA < 30 g/L
Stade II : Myélome en masse tumorale intermédiaire	Ne répond pas à la définition ni du stade I ni du stade III
Stade III : Myélome de forte masse tumoral	Présence d'au moins un des critères suivants : - Hémoglobine < 85 g/L - Calcémie >120 mg/L (3 mmol/L) - Lésions osseuses multiples - Taux élevé d'Ig monoclonale : * IgG > 70 g/L * IgA > 50 g/L * BJ urines > 12 g/24h
Sous-classification : - Stade A : créatinine < 20 mg/L (< 177 μmol/l) - Stade B : créatinine ≥ 20 mg/L (≥ 177 μmol/l)	

-Classification pronostique internationale (International Staging System « ISS ») :

Une méta-analyse de différents essais thérapeutiques internationaux sur plus de 10.000 patients a permis de construire une classification pronostique internationale appelée ISS (International Staging System), basée sur le taux de β2m et le taux de l'albumine [23].

Cette classification est d'utilisation simple en pratique clinique et permet d'identifier trois groupes de patients avec des survies significativement différentes [23].

Tableau 08 : Classification pronostique internationale (International Staging System « ISS

Stade	Critères	Survie médiane (mois)
Stade 1	B2microglobuline inf 3.5mg/l Et albumémie sup 35mg/l	62
stade 2	Ni stade 1 ni stade 3	44
stade 3	B2microglobuline sup 5.5 mg/l	29

- ISS révisé :

L'IMWG a proposé une version révisée de l'ISS en 2015 (ISS-R) avec l'ajout du taux de LDH et les anomalies cytogénétiques de haut risque : délétion 17p, t (4 ;14) , t(14 ;16)[25].

Tableau 09 : ISS révisé

Stade (R-ISS)	CRITERES
Stade R-ISS 1	ISS stade 1 et cytogénétique de risque standard en FISH et LDH normal
Stade R-ISS 2	Ni stade R-ISS1,ni stade R-ISS 3
Stade R-ISS 3	ISS stade 2 et soit une cytogénétique de haut risque en FISH et Soit LDH élève

9. Traitement:

- **But** : le but du traitement est de prolonger la survie globale en augmentant le taux de RC et RP, d'améliorer le confort de vie en diminuant la morbidité osseuse, d'éviter les complications infectieuses et de limiter la toxicité du traitement.

Le traitement du myélome est basé sur la chimiothérapie et dépend de la masse tumorale. Ainsi dans les myélomes à faible masse tumorale, l'abstention est préconisée. Dans les autres formes, les protocoles vont de la monochimiothérapie (méphalan-cortancyl) à la polychimiothérapie (VMCP, VAD et actuellement les protocoles incluant le velcade , le thalidomide ou le revlimid et l'autogreffe.

L'efficacité du traitement est jugée sur la diminution de la protéine monoclonale de 75%, de 90% pour l'excrétion de la chaîne légère (elle doit être <0,2g/24h), de la stabilisation des lésions et la correction de la calcémie.

9.1. Traitements symptomatiques

Traitements du syndrome osseux

Les antalgiques par palier selon les recommandations de l'OMS (AINES proscrits) :

Palier 1 : paracétamol

Palier 2 (opioïdes faibles) : codéine, dihydrocodéine, tramadol

Palier 3 (opioïdes forts) : morphine, chlorhydrate de morphine, fentanyl.

Les bisphosphonates

Arédia (90mg) favorise la reconstruction osseuse et préviennent les événements osseux au long cours.

L'acide Zolédronique (Zometa: 4mg/mois) a un pouvoir anti-ostéoclastique et probablement une activité anti-tumorale propre.

Le dénosumab (xjeva) : Ac Mo humain anti RANKL de type Ig G2 (120 mg) en S/C chaque 28 jours +Vit D 400 UI + calcium 500 mg (sauf en cas d'hypercalcémie).

Certaines manifestations osseuses nécessitent un traitement spécifique : immobilisation des fractures périphériques ou rachidiennes, pose de corset, fixation chirurgicale ou réparatrice d'une fracture pathologique ou de lésion ostéolytique menaçante.

Les compressions neurologiques inaugurales nécessitent un geste chirurgical en urgence à visée thérapeutique (décompression par laminectomie complétée d'une radiothérapie).

La radiothérapie Elle est donnée à visée antalgique sur des lésions osseuses pré-fracturaires, en cas de compression médullaire avec épидурite ou sur de volumineuses lésions plasmocytaires.

***Traitement de l'insuffisance médullaire** L'anémie a une composante multifactorielle (insuffisance médullaire, insuffisance rénale, hémodilution). Son traitement se base sur le support transfusionnel et l'érythropoïétine lors des traitements aplasants. Erythropoïétine si taux d'Hb 8g/dl : Eprex 40000 UI 1/S/ SC

***L'insuffisance rénale.** Son origine est plurifactorielle. Une part fonctionnelle peut être corrigée par une hydratation suffisante. Il faut dans tous les cas assurer sa prévention par une diurèse alcaline afin de limiter la précipitation des chaînes légères toxiques par les tubules rénaux. Une hémodialyse est mise en place si nécessaire.

***L'hypercalcémie** relève d'une réhydratation avec une diurèse saline associée aux bisphosphonates et au traitement spécifique.

***L'hyperviscosité** nécessite des plasmaphèreses.

***Les infections** : elles sont fréquentes en phase inaugurale ou évolutive de la maladie. Les antibiotiques sont nécessaires pour une infection déclarée. La vaccination anti-pneumococcique est efficace chez un tiers des patients

9.2. Le traitement spécifique :

Protocoles des patients moins de 65 ans

VELCADE 1,3 mg/m²/j J1 J4 J8 J11 IVD.

DEXAMETHASONE 40 mg/j J1 à J4 IV.

Cycles 21 Jours, 3-4cures

VELCADE 1 mg/m² J1 J4 J8 J11 IV.

THALIDOMIDE 100 mg/j po en continu.

DEXAMETHASONE 40 mg/j J1 à J4 IV

Cycles 21 Jours, 3-4cures

VELCADE 1 mg/m² J1 J8 J15 J22 IV.

ENDOXAN 300 mg/m² (500 mg max) J1 J8 +/-J15 IV.

DEXAMETHASONE 40 mg/j J1 à J4 IV

Cycles 35 Jours, 3-4cures

VELCADE 1,3 mg/m² J1 J4 J8 J11 IV.

REVLIMID 25 mg/j j1-J21.

DEXAMETHASONE 40 mg/j J1 à J4, J8 à J11 IV

Cycles 35 Jours, 3-4cures

- **Autogreffe s'il y a une rémission pour les patients \geq 65 ans**

Entretien

Thalidomide: 50 mg/j ou Lénalidomide 25 mg /j + Aspégic 100 mg/j pendant 21 jours sur 12 à 18 mois

Protocoles des patients de plus de 65 ans

MELPHALAN 0,25mg /kg de J1 à J4 PO

PREDNISONNE 2mg/kg J1 à J4 PO

VELCADE 1,3mg/m² (J1, J8, J15, J22) SC

Cycles 35 Jours (9cycles)

MELPHALAN 0,25mg /kg de J1 à j4 PO

PREDNISONNE 2mg/kg/j J1 à j4 PO

THALIDOMIDE 200mg/j le soir une heure avant le coucher en continu.

Cycles 42 Jours (12cycles)

Patients de plus de 75 ans

MELPHALAN 0,2mg /kg de J1 à j4 PO

PREDNISONNE 2mg/kg/j J1 à j4 PO

Cycles 35 Jours (12cycles)

L'abstention thérapeutique se justifie pleinement pour les Gammopathies monoclonales de signification indéterminée et les myélomes multiples asymptomatiques («smoldering myeloma» et myélome indolent).

La radiothérapie est indiquée dans les plasmocytomes osseux et extraosseux. Les tassements Vertébraux avec signes de compression médullaire justifient un acte chirurgical, au même titre que certaines fractures pathologiques ou encore un syndrome du tunnel carpien sur amyloïdose. Un syndrome d'hyperviscosité bénéficie des plasmaphèreses. Les manifestations cliniques liées à une hypercalcémie régressent grâce à une hydratation adéquate, aux corticoïdes et aux biphosphonates. Le traitement dit de soutien comprend une antalgie efficace (douleurs osseuses), la prescription d'antibiotiques (complications infectieuses),

L'administration d'unités d'érythrocytes (syndrome anémique) et de plaquettes (diathèse hémorragique)

-Le traitement de fond du myélome multiple repose sur la chimiothérapie dont les indications et les modalités de prescription sont du domaine du spécialiste, hématologue ou oncologue.

Le traitement conventionnel comprend l'association Melphalan-Prednisone avec un taux de réponses initiales d'environ 50%. Les rémissions complètes sont inférieures à 10%. Le taux de survie à 5 ans est approximativement de 25%. Un gain de 10 à 20% dans les réponses est obtenu avec des chimiothérapies plus agressives, par exemple l'association VBMCP (Vincristine, Carmustine, Melphalan, Cyclophosphamide, Prednisone), malheureusement sans bénéfice sur la survie.

-L'autogreffe de moelle osseuse, pratiquée au moment du diagnostic ou lors d'une rechute, permet d'obtenir 75 à 90% de réponses. Les rémissions complètes sont de l'ordre de 20 à 40%.

Le conditionnement classique prégreffe comprend l'association Vincristine, Doxorubicine et Dexaméthasone(VAD), ou Dexaméthasone seule ou encore Dexaméthasone et Thalidomide.

Si la greffe allogénique classique est rarement pratiquée (mortalité élevée, sévérité de la maladie du greffon contre l'hôte = GVHD), en revanche la mini-allogreffe (non totalement myéloablative, donc moins toxique), pratiquée précocement après l'autogreffe ou lors d'une à rechute, suscite un intérêt croissant avec un taux de réponses évalué à environ 80% .

Le traitement d'entretien comprend la Prednisone à petites doses, éventuellement la Thalidomide.

L'Interféron-a, proposé dans le but de prolonger la phase en plateau du myélome multiple, a perdu de son intérêt en raison de doutes sérieux sur son efficacité, de ses effets secondaires et de son coût.

Deux molécules se sont avérées efficaces dans les myélomes multiples en rechute ou d'emblée réfractaires aux thérapies conventionnelles: la Thalidomide et le Bortezomib.

La Thalidomide a une activité proapoptotique, immunomodulatrice et antiangiogénique. Le taux de réponse est d'environ 32% chez des patients lourdement prétraités .

Le Bortezomib (inhibiteur des protéasomes) a également une activité proapoptotique. En outre ,il inhibe l'adhésion des plasmocytes malins aux cellules du microenvironnement médullaire, la sécrétion d'interleukine-6 et l'angiogénèse. Le taux de réponse est de 32% .

Le myélome multiple demeure aujourd'hui une affection redoutable et incurable. Cependant, Une meilleure connaissance des mécanismes cellulaires et le développement de nouvelles thérapies ciblées devraient améliorer cette situation préoccupante dans un avenir que l'on souhaite proche.

9.3. LE DON DE MOELLE OSSEUSE:

En 2016, 20 571 greffes de moelle osseuse ont été réalisées dans le monde et 967 en France. La greffe (ou transplantation) de moelle d'un individu à un autre individu nécessite des donneurs : en 2016, ils étaient 263 343 inscrits sur le registre français¹. Pour être donneur, il faut remplir trois conditions : être âgé entre 18 et 51 ans, être en bonne santé, accepter une prise de sang et un questionnaire. Pourquoi être donneur ? Les médecins s'adressent en général à l'entourage proche du malade car celui-ci a une chance sur quatre d'être compatible avec son frère ou sa sœur. Si besoin, ils vont avoir recours aux différents registres dans le monde, car la probabilité d'être compatible entre deux individus pris au hasard est d'une chance sur un million. Plus il y a de donneurs, plus la probabilité de trouver un donneur compatible est grande. [26]

9.4. Poursuivre les avancées dans les traitements médicamenteux :

-ÉLARGIR LA PRESCRIPTION DES THÉRAPIES CIBLÉES:

La recherche de nouveaux anticorps monoclonaux qui se fixent spécifiquement sur une protéine présente à la surface de la cellule cancéreuse se poursuit. L'utilisation de ces thérapies ciblées en association, au début de la prise en charge, est en cours d'évaluation, avant même la greffe de cellules souches [27]

***L'ESPOIR DES CAR-T CELLS:**

Les chercheurs ont mis au point une technique qui consiste à injecter au patient ses propres cellules immunitaires (des lymphocytes T) après qu'elles ont été modifiées génétiquement pour reconnaître la tumeur. Chez certains patients atteints de cancers du sang avancés, l'injection de ces cellules appelées « CAR T » (pour chimeric antigen receptor T cells) a permis de faire disparaître des cellules cancéreuses jusqu'alors résistantes à tous les traitements classiques. Il y a bon espoir que ces cellules puissent un jour être utilisées pour les patients atteints de myélome multiple pour lesquels les traitements actuels ne sont pas efficaces. Aujourd'hui les chercheurs travaillent à identifier les meilleures cibles situées sur la membrane des cellules cancéreuses, par exemple la protéine BCMA5, et tentent d'évaluer la faisabilité de cette thérapie.

10-Le suivi de la gammopathie monoclonale

Pour un peu plus de la moitié des patients, il est pratiqué de manière biannuelle les premières années puis annuellement quand les résultats restent stables. La majorité des spécialistes confie aux médecins généralistes la surveillance à long terme, une fois que la stabilité des résultats est confirmée.

Les principaux examens paracliniques réalisés au cours du suivi sont :

- NFS, plaquettes
- protéinurie de Bence-Jones
- protidémie
- électrophorèse des protéines plasmatiques et immunoélectrophorèse
- dosage pondéral des immunoglobulines
- créatinine plasmatique
- calcémie

Ils sont évidemment associés au suivi nosologique et clinique. Les études (28) à long terme (10 à 30 ans) des patients atteints des gammopathies monoclonales d'origine indéterminée montrent que :

- 10 à 15 % de ces gammopathies n'ont aucune évolutivité ;
- chez environ 10% des patients, le taux d'immunoglobuline monoclonale va dépasser 30g/l,
- sans évolution vers un myélome multiple ou vers une autre hémopathie maligne ;
- un quart des patients évolue vers une hémopathie lymphoïde maligne, le plus souvent un myélome multiple (66%), amylose primitive (13%), maladie de Waldenstrom (11%), lymphome non Hodgkinien ou leucémie lymphoïde chronique (8%).

A compter du diagnostic de gammopathie monoclonale d'origine indéterminée, le délai médian de survenue d'une hémopathie maligne est de l'ordre de dix ans. L'incidence actuelle des hémopathies malignes est de 15% à 10 ans du diagnostic initial de gammopathie monoclonale d'origine indéterminée, de 25% à 15 ans et de 40% à 25 ans (29).

Du fait de leur potentiel évolutif et de l'absence de facteurs prédictifs clairement définis, le suivi d'une gammopathie monoclonale doit être rigoureux.

Pour les **gammopathies monoclonales à faible risque évolutif** (pic inférieur à 15g/l, pas de baisse des immunoglobulines polyclonales, pas de protéinurie de Bence-Jones), la **Surveillance peut être annuelle**. Pour les **gammopathies monoclonales d'origine Indéterminée ne répondant pas à ces critères, un suivi semestriel est souhaité**.

Le suivi d'une gammopathie monoclonale d'origine indéterminée comporte (29) :

- un examen clinique à la recherche de tout signe d'hémopathie associée,
- une numération de formule sanguine, une calcémie, une créatinine et une mesure du pic monoclonal par électrophorèse des protéides,

- on complète ce bilan par une recherche de protéinurie de Bence-Jones et un Myélogramme en cas d'apparition de signes cliniques ou biologiques évocateurs d'une hémopathie associée ou en cas de majoration significative du pic (augmentation de 50% ou >30g/l).

Il est important d'expliquer au patient que l'anomalie retrouvée a un risque évolutif faible à long terme, mais qu'elle justifie néanmoins une surveillance régulière et rigoureuse, afin que son adhésion au suivi soit la meilleure.

De même, il est capital de recommander au patient de consulter rapidement en cas de symptômes pouvant évoquer une hémopathie associée (asthénie, pâleur, douleurs osseuses, paresthésies.. .). En effet, l'apparition d'une hémopathie maligne, et plus particulièrement d'un myélome, peut être brutale.

Chapitre 2: Dosage des chaînes légères libres:

Rappel:

Le système immunitaire rassemble l'ensemble des mécanismes qu'utilise l'organisme pour la distinction entre le soi et le non-soi. La mise en œuvre de ces mécanismes nécessite un apprentissage somatique avec mémorisation des structures étrangères rencontrées au cours de la vie.

Une fois que l'antigène a été reconnue comme non-soi le système produit des effecteurs de nature soluble (immunité humorale), ou/et de nature cellulaire (immunité cellulaire).

L'immunité humorale utilise comme effecteurs les anticorps, le support moléculaire des anticorps est l'immunoglobuline.

Rappel sur les immunoglobulines:

1. la structure général Ig :

L'immunoglobuline est une glycoprotéine produite par les plasmocytes en réponse a un immunogène et a une fonction d'anticorps. Elle comporte une partie variable, différente pour chaque anticorps, pour reconnaître l'épitope d'un antigène apportée principalement par l'alimentation, la respiration ou par les invasions microbiennes ou virales, et une partie effectrice permettant que cette identification soit suivie d'effets dans le système immunitaire.

Les immunoglobulines ont un phi élève et migrent en électrophorèse dans la zone des γ -globulines ou des β_2 -globulines. Elles sont transportées par le sang et diffusent dans les espaces extracellulaires.

2. Structure générale d'un monomère d'Ig:

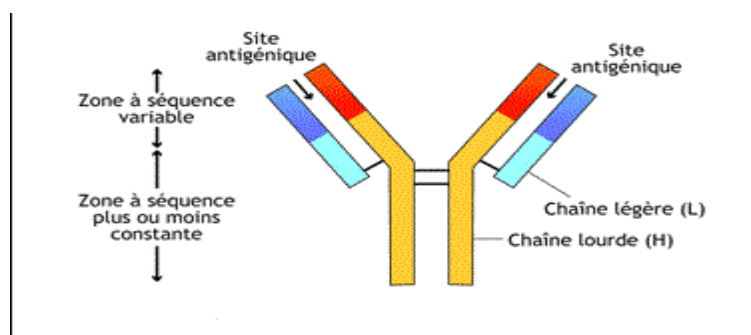


Figure 16 : Structure des IgG humaines normales

La molécule d'immunoglobuline a une forme en Y. Elle est constituée de trois segments de taille égale reliés par une zone de jonction flexible. Toutes les immunoglobulines ont une structure de base identique. Elles sont formées de deux paires de chaînes lourdes et légères reliées par des ponts disulfures.

Les immunoglobulines sont composées de plusieurs types de sous-unités (chaînes), de masses variables (chaînes lourdes, chaînes légères), dérivées de gènes structuraux susceptibles d'être combinés et de réarrangements. L'extrémité commune des chaînes lourdes et des chaînes légères est très différente dans sa structure primaire et adaptée à la spécificité d'un antigène. La partie constante des immunoglobulines est responsable de leurs fonctions effectrices: fixation du complément, lyse antibactérienne, activité antivirale.

Les sous-unités sont constituées de répétitions de domaines de 110 acides aminés environ dont la structure se diffère en fonction du lymphocyte qui les produit. Les chaînes légères et les chaînes lourdes sont de divers types. Elles présentent des sous-groupes variant selon les individus et des zones hypervariables dépendant de l'antigène qu'elles reconnaissent.

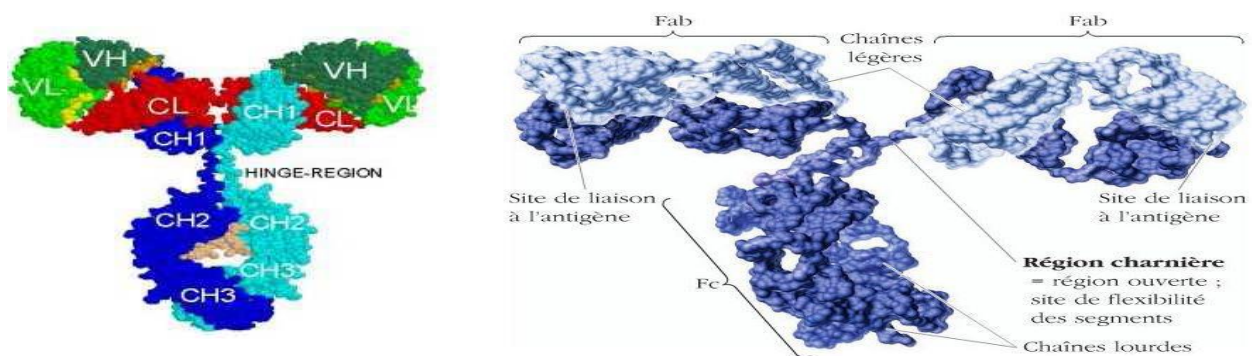


Figure 17 : Schéma explicatif des domaines variables et constants d'une immunoglobuline(Ig)

3-les cinq classes d'immunoglobulines:

Les mammifères possèdent 5 classes d'immunoglobulines appelées : IgG, IgA, IgE, IgD, IgM. Le poids moléculaire, la charge, la migration électrophorétique, la composition en acides aminés, et les chaînes de sucres sont différents suivant la classe Ig.

Tableau 10 : Principales caractéristique des immunoglobulines

Classe d'isotype	Caractéristiques principales	[g/L]	½ vie (j)
IgM	-Base de la réponse primaire -Faible affinité, forte avidité	0,5 a 2,5	5
IgD	-Récepteurs des lymphocytes B	Traces	3
IgG (IgG 1, 2, 3,4)	-Le plus abondant -Base des réponses secondaire -Traverse le placenta	7 a 15	23
IgE	-Médiateur de l'allergie -Défense anti-helminthe	0,02 a 0,5	2
IgA (IgA 1,2)	-Le plus abondants dans les sécrétions -Traverse les cellules épithéliales	1,5 a 4,5	6

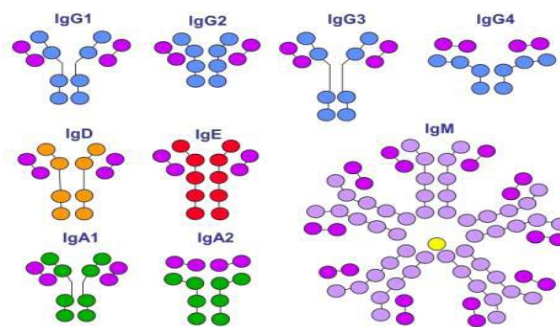


Figure 18: Différentes classes et sous classes des immunoglobulines

3-1 : structure de base des Ig:

-les chaînes lourdes: les isotypes Ig humaines sont réparties en cinq principales : gamma, alpha, delta, mu, epsilon.

L'existence de sous-classes d'Ig a pu être démontrée à l'intérieur de chaque classe de chaînes lourdes différent par le nombre de ponts disulfure ; il existe quatre sous classes d'IgG : IgG1-IgG2-IgG3-IgG4

-les chaînes légères:

Il existe deux types principaux de chaînes légères appelées kappa et lambda.

Ces chaînes sont différentes par leurs séquences d'acides aminés. Chaque molécule d'Ig ne contient qu'un seul type (kappa ou lambda), quelle que soit la classe de l'Ig.

Chez l'homme, kappa est représentée dans 2/3 des Ig et lambda dans 1/3 des Ig seulement.

4. Les anomalies des Immunoglobulines :

Le taux d'immunoglobulines du sérum est constitué de l'association des produits de multiples clones. Il existe un équilibre fortement régulé de ces taux d'Ig sous l'action combinée d'une synthèse de novo d'immunoglobulines et d'un catabolisme.

Dans différentes circonstances, il existe un dérèglement de cet équilibre on distingue différentes situations :

- Stimulation de la production de très nombreux clones responsable d'une hypergammaglobulinémie polyclonale
- Stimulation de la production de quelques clones : oligoclonalité
- Production excessive d'un seul clone : immunoglobuline monoclonale (*Roitt.,2002*)

5. Ig monoclonales et polyclonales:

5.1. Ig polyclonale : nous allons injecter un Ag chez la souris :

On prélève le sérum de cet animal après qu'il a eu le temps de produire une quantité suffisante d'anticorps. Le sérum contenant principalement l'anticorps recherché est souvent appelé antisérum. Evidemment cet antisérum, en plus d'être polyclonale, est polyvalent. Il contient des anticorps contre toutes les protéines étrangères (virales, bactériennes) auxquelles l'animal a été exposé plus ou moins récemment. Il devient alors souvent nécessaire de purifier l'anticorps qui nous intéresse.

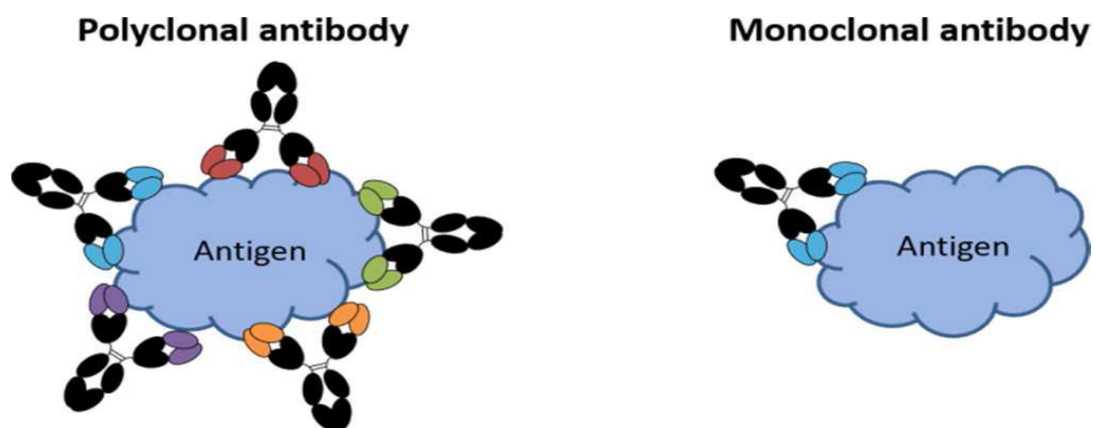


Figure 19 : Catégories d'anticorps.

Comparaison des anticorps polyclonaux, qui se lient au même antigène, mais à des épitopes différents, avec des anticorps monoclonaux qui se lient tous au même épitope sur un antigène cible.

5.2. Ig monoclonale: nous allons injecter un Ag chez la souris :

On va isoler les cellules de rate (contenant l'anticorps produit par la souris) que l'on va faire s'hybrider avec des cellules de myélome qui elles sont immortelles. Après sélection des clones, ceci va nous permettre d'obtenir des anticorps monoclonaux qui pourront s'attaquer à l'épitope que nous aurons choisi.

A l'hétérogénéité des Ig normales, ^{^^}polyclonale^{^^}, s'oppose l'homogénéité des Ig monoclonales, qui possèdent toutes la même chaîne lourde aussi chaînes légères, même déterminants idiotypiques et même spécificité anticorps.

Cette homogénéité structurale se traduit par une identité de charge électrique, responsable de l'apparition d'une bande étroite (pic) en électrophorèse.

Il existe 2 types des Ig monoclonales :

Tableau 11 : les types d'Immunoglobulines monoclonales.

Ig monoclonale complète (95%)	Ig monoclonale incomplète (5%)
- Deux chaînes lourdes de même classe et sous-classe. - Deux chaînes légères de même type :IgG(70%), IgM(12%), IgA(15%), plus rarement IgD et E, Biclone (3%) (Deconinck., 2010)	- Chaînes légères libres monoclonales de type K ou λ (Pic monoclonal invisible à l'électrophorèse). - Chaînes lourdes monoclonales (rares) de type α , δ ou μ (Pic monoclonal inconstant). (Deconinck., 2010)

6. Caractéristiques des Ig monoclonales:

6.1. L'identité structurale:

-Les immunoglobulines de surface, intracytoplasmiques des cellules du clone et les Ig sécrétées sont identiques et partagent le même domaine variable. Elles sont constituées d'un seul type de chaîne lourde et de chaîne légère (**BOULARAN, 2004**).

6.2. L'identité immunologique

Les Ig monoclonales ont les mêmes déterminants isotypiques, allotypiques et idiotypiques. Elles possèdent donc la même activité anticorps (**BOULARAN, 2004**).

6.3. L'identité de la configuration des gènes :

La biologie moléculaire indique que les gènes codant pour les Ig sont réarrangés de façon identique (BOULARAN, 2004).

6.4. L'identité de la mobilité électrophorétique :

A l'électrophorèse, l'Ig monoclonale se manifeste par un pic étroit correspondant à une homogénéité de charge de l'immunoglobuline à la différence des Ig polyclonales donnant une large bande au niveau des gammaglobulines. Le pic peut être discret ou absent si l'Ig a un PM suffisamment faible pour être éliminé par le rein (chaînes légères)

6.5. Leur localisation :

On les recherche dans le sérum, les urines (chaînes légères : protéine de Bence Jones, et ou Ig entière), associées aux surfaces membranaires des lymphocytes B ou dans le cytoplasme des plasmocytes du clone anormal (BOULARAN, 2004).

-Protéine de Bence Jones :

1. Définition :

Les protéines de Bence-Jones sont des fragments d'anticorps (appelés chaînes légères kappa et lambda) qui ne se retrouvent pas normalement dans les urines. Ces protéines ne sont pas détectées lors de la recherche de protéines urinaires faisant partie de l'analyse d'urine de routine. La présence de protéines de Bence-Jones est souvent suspectée suite à des anomalies à l'électrophorèse des protéines du sang. La recherche de protéines de Bence-Jones est toujours accompagnée d'un dosage des protéines urinaires totales. Cette recherche peut se faire sur une miction d'urine isolée ou une collecte des urines de 24 heures.

-La présence de protéines de Bence-Jones peut indiquer une production exagérée de chaînes légères d'un seul type d'anticorps (production monoclonale) par des cellules de la moelle osseuse (plasmocytes). Cette surproduction peut être sans signification clinique immédiate (MGUS ou gammopathie monoclonale de signification indéterminée) ou provenir d'un myélome multiple, une variété de cancer de la moelle osseuse. En cas de recherche positive, un commentaire indique la nature de la chaîne légère présente (kappa ou lambda). On peut retrouver également des protéines de Bence-Jones dans certaines affections bénignes.

-Les « protéines de Bence Jones » sont constituées de chaînes légères libres (CLL) monoclonales d'immunoglobulines (Ig), d'isotype Kappa (κ) ou Lambda (λ), de poids

moléculaire (PM) 23 000 Da ; elles peuvent être détectées dans le sang et/ou dans les urines (on parle alors de protéinurie de Bence Jones). Ces CLL peuvent ou non se polymériser sous forme de dimères (surtout les CLL λ) voire de multimères (et atteindre ainsi des poids moléculaires élevés jusqu'à 900 kDa) ; elles peuvent également interagir avec d'autres protéines (albumine, α_1 et α_2 globulines).

-Toutes ces caractéristiques physicochimiques particulières rendent délicates les techniques à notre disposition pour les rechercher/quantifier dans le sérum et/ou les urines (grande variabilité de migration électrophorétique et/ou de reconnaissance antigénique) [30].

2. Métabolisme de la protéine de Bence Jones:

Les Gènes humains codant pour les chaînes d'immunoglobuline κ et λ sont présents dans les chromosomes 2 et 22, respectivement, alors que les gènes de toutes les chaînes lourdes sont regroupés sur le chromosome 14. Les chaînes légères et lourdes sont synthétisées indépendamment sur des ribosomes séparés et unies par des liaisons disulfures pendant ou peu de temps après la synthèse des chaînes lourdes, formant une immunoglobuline intacte qui est ensuite sécrétée.

3. Physiopathologies : Lors de la synthèse d'Ig par les plasmocytes, les chaînes légères (κ ou λ) sont synthétisées en excès (+ 40 %) par rapport aux chaînes lourdes (μ , α , γ , δ , ϵ) pour permettre une conformation correcte de l'Ig complète. La proportion de CLL κ et CLL λ produites est dans un rapport de deux pour un. Les monomères CLL κ sont éliminés rapidement du sang, en 2 à 4 heures, tandis que les dimères ou multimères CLL λ sont éliminés en 3 à 6 heures. Au final, le sérum contient plus de CLL λ que de CLL κ , en dépit d'une production plus importante de CLL κ .

En situation physiologique, ces CLL sont présentes en faible quantité ; du fait de leur faible PM, elles sont filtrées par le glomérule, puis réabsorbées et métabolisées au niveau du tube proximal, et seule une quantité minimale (1-10 mg) est finalement éliminée dans les urines. Dans certaines situations pathologiques (insuffisance rénale, maladies hématologiques), ces CLL vont s'accumuler dans le sang ou être éliminées de façon plus importante dans les urines du fait de la saturation des mécanismes de réabsorption.

Dans le cadre d'une insuffisance rénale, il va y avoir une accumulation des 2 isotypes de CLL; dans le cadre d'une hémopathie à sécrétion de CLL monoclonales, il n'y aura accumulation que d'un seul des 2 isotypes.

Ces CLL produites en excès vont alors précipiter au niveau du tube distal et entraîner une insuffisance rénale ou une aggravation de cette dernière. L'excès de CLL circulantes va parfois avoir un effet délétère en se déposant au niveau tissulaire, entraînant un risque important de complications multiviscérales (amylose AL, maladies de dépôts de CLL, neuropathies ...).[30]

Méthodes de diagnostiques:

1. Electrophorèse des protéines sériques (EPS) :

L'EPS mets en évidence un pic étroit correspondant à une protéine monoclonale de type IgG ou IgA migrant dans la zone des γ -globulines, des β -globulines, ou plus rarement des α_2 -globulines (Figure 20).

Parfois, il n'existe pas d'aspect de pic étroit à l'EPS. Cette situation correspond surtout au MM à chaînes légères où l'anomalie sérique usuelle est une hypogammaglobulinémie. Rarement, l'absence de pic étroit sur l'EPS est en rapport avec un MM non excréteur ou non sécrétant [21].

2. Immunotypage de composant sérique :

L'immunotypage de composant sérique permet de confirmer la présence du composant monoclonal ainsi que l'immunotypage du composant monoclonal (chaîne lourde et/ou la chaîne légère).

Plusieurs techniques peuvent être utilisées :

2.1.Immunofixation : est basée sur la précipitation in situ des immunoglobulines, préalablement fractionnées par électrophorèse en gel d'agarose, avec des anti-sérums spécifiques de chaque isotype incubés à la surface du gel. Après lavage, les immunoglobulines sont révélées par coloration (Figure 21)[21].

L'immunofixation permet d'identifier des immunoglobulines monoclonales dans un mélange, en fonction de leur mobilité électrophorétique. Pour permettre cette identification, on utilise des anticorps spécifiques de ces immunoglobulines.

Elle consiste au dépôt du sérum (ou de l'urine +/- concentrée) sur un gel d'agarose. Après application d'un courant électrique qui permet la séparation des protéines en fonction de leur charge, des anticorps spécifiques de chaque type d'immunoglobuline sont déposés sur le gel (antisérums anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti- κ , anti- λ). Ces antisérums sont ajoutés individuellement sur chaque piste de migration lors de la suspicion d'expression d'une Ig monoclonale potentiellement vue à l'électrophorèse capillaire (**Karfo et al., 2018**). Ces anticorps précipitent (d'où le terme d'immunofixation) dans le gel les antigènes ciblés. On révèle ensuite les complexes formés par une étape de coloration. Il apparaît ainsi des bandes

plus ou moins intenses, plus ou moins étroites sur le gel, au niveau où se situent les différentes immunoglobulines.

En cas de suspicion de présence de CLL, on peut la suspecter en cas de présence d'une bande au niveau de l'analyse d'une chaîne libre sans bande au niveau de l'analyse des chaînes lourdes G, A ou M et D ou E qui sont analysées en deuxième intention. On peut la confirmer avec une immunofixation avec un antisérum dirigé spécifiquement contre les chaînes légères libres ne reconnaissant pas les CL liées aux chaînes lourdes.) [31].

2.2. Immunosoustraction : est effectué selon le principe d'une électrophorèse capillaire et sur des profils obtenus lors de l'injection dans les capillaires d'un sérum en présence des antisérums monospécifiques anti-Ig G, anti-IgA, anti-Ig M, anti-kappa et anti-lambda. La comparaison des profils antisérums avec le profil EP d'un patient permet de visualiser la disparition et/ou la diminution d'un pic monoclonal sur le profil antisérum et d'en déduire la présence du composé monoclonal (Figure 22) [32].

2.3. Immunotypage en électrophorèse capillaire:

L'immunotypage consiste à faire une électrophorèse capillaire du sérum en présence des antisérums monospécifiques anti-IgG, anti IgA, anti IgM, anti-K et anti-L (un antisérum par profil) couplés à des charges négatives. Il y a ainsi formation de complexes en milieu liquide.

Ces complexes migrent hors la zone de gamma dans une position anodique, proche et en amont de l'albumine. La comparaison des profils avec antisérums au profil sans anti-sérum chez un patient permet de visualiser la disparition et/ou la diminution d'un pic monoclonal sur le profil antisérum et d'en déduire la présence du composé monoclonal comme illustré ci-après pour une CLL monoclonale Kappa (Katzmann et al., 1998).) [31].

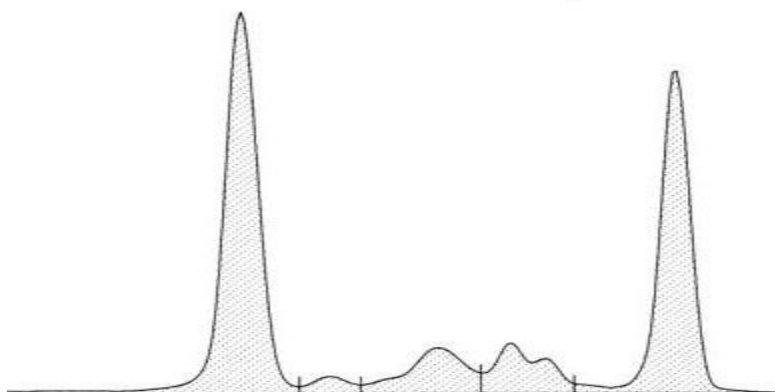


Figure 20 : Electrophorèse des protéines sériques (EPS)

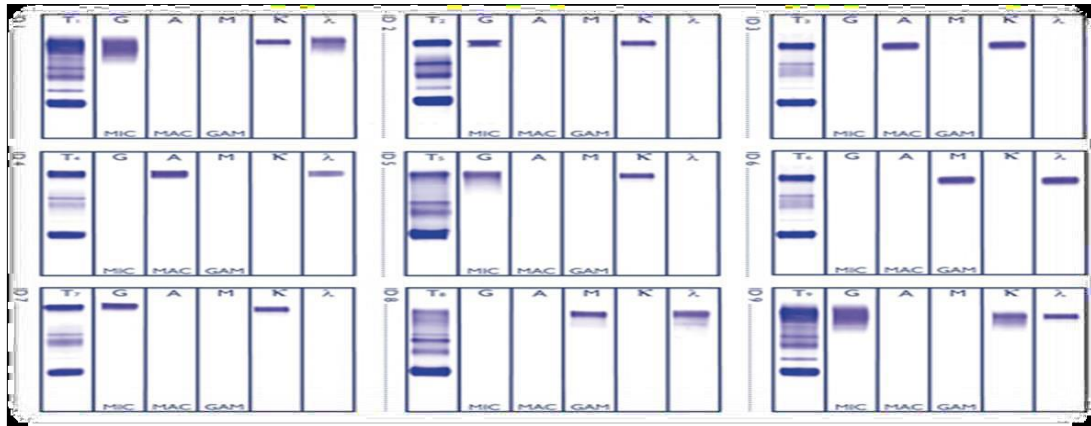


Figure 21 : Immunofixation des protéines sériques

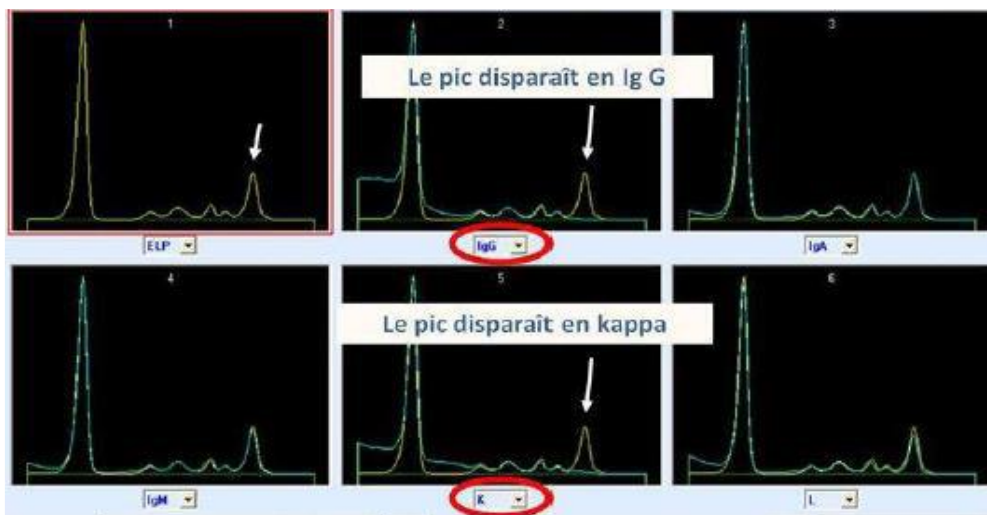


Figure 22: Immunosoustraction des protéines sérique

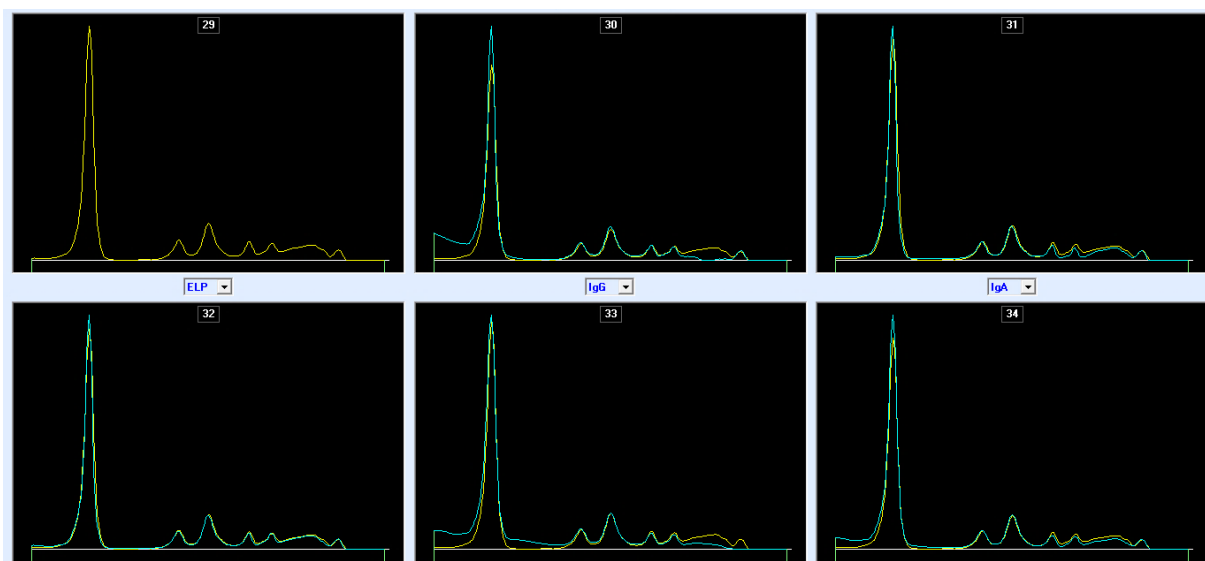


Figure 23 : représentant un exemple d'électrophorèse capillaire et d'immuno-soustraction

- **Dosage des chaînes libres (Protéine de Bence Jones) :**

Le dosage des chaînes légères libres sériques (CLLs) est un marqueur important dans les dyscrasies plasmocytaires. Il est ainsi recommandé en première intention pour le diagnostic des Gammopathies monoclonales, en association à l'électrophorèse et à l'immunofixation des protides *pour la détection et la caractérisation d'une CLL monoclonale K* sériques. Les CLLs ont aussi un rôle pronostique et permettent de suivre la réponse thérapeutique et la rechute de certaines pathologies avec gammopathie monoclonale. Trois dosages sont actuellement disponibles en France, celui de référence à ce jour étant le Freelite®, les 2 autres nécessitant de plus amples validations. Ces trois tests ne sont pas interchangeables dans le suivi de la réponse thérapeutique. Le test Freelite® fait partie des critères diagnostiques du myélome de l'International Myeloma Working Group 2014, et possède une meilleure sensibilité que la protéinurie de Bence Jones pour le diagnostic, la réponse thérapeutique et le suivi des myélomes à chaînes légères. Il représente par ailleurs le marqueur principal de la réponse thérapeutique dans l'amylose associée aux chaînes légères et permet de stratifier le risque d'évolution des Gammopathies monoclonales de signification indéterminée. Enfin, des études ont montré son intérêt dans le diagnostic de sclérose en plaque et dans le dépistage d'une gammopathie monoclonale devant un tableau d'insuffisance rénale aiguë. Son utilisation, aujourd'hui incontournable dans le myélome ou l'amylose, pourrait s'étendre prochainement au suivi des maladies auto-immunes.

1. Causes d'augmentation des CLLs :

***Augmentation monoclonale (ratio k/l anormal) :**

Un ratio k/l anormal témoigne d'un excès de production d'un même isotype de CLLs, lié à la Prolifération d'un clone lymphocytaire B. Les étiologies d'une telle prolifération sont multiples, incluant le myélome, la gammopathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI), la leucémie lymphoïde chronique (LLC), la maladie de Waldenström (MW) et les autres lymphomes de bas grade, l'amylose associée aux chaînes légères (AL), et le plasmocytome. Les critères diagnostiques et la proportion de ratio k/l anormal des différentes dyscrasies plasmocytaires.

***Augmentation polyclonale (ratio k/l normal) :**

Un ratio k/l normal en cas d'augmentation des CLLs témoigne d'une prolifération polyclonale Lymphocytaire B (maladies auto-immunes, infections virales chroniques) et/ou d'une diminution de la filtration glomérulaire des Ig polyclonales (insuffisance rénale, âge élevé)

2. Explorations biologiques des chaînes légères libres sériques:

La protéinurie de Bence Jones a longtemps été le seul dosage permettant une mesure des chaînes légères, de manière indirecte dans les urines [33]. Le dosage des chaînes légères libres sériques (CLLs) est disponible depuis 2001. Initialement, il permettait de mettre en évidence une gammopathie monoclonale de façon très sensible en cas d'anormalité du ratio des chaînes légères k/l [1]. Depuis, de multiples applications se sont développées, essentiellement dans le domaine de l'Onco-hématologie et de la néphrologie, et d'autres sont en cours, notamment dans les maladies auto-immunes. Trois tests sont actuellement disponibles en France : celui de référence initial Freelite®, commercialisé depuis 2001 par The Binding Site© [33], qui est le plus amplement validé et utilisé, le N Latex FLC assay® de Siemens© depuis 2011 [34], et le test Seralite® d'Abingdon Health©, commercialisé depuis 2016.

Cette mise au point sera ainsi principalement focalisée sur le test Freelite®, compte tenu de ses indications vastes, d'une prescription souvent excessive, et de la découverte récente d'un rôle dans les pathologies extra-hématologiques. Seront tout d'abord abordés les rôles physiologiques et pathologiques des chaînes légères, leurs caractéristiques

Pour la suite, les termes CLLi et CLLni seront utilisés respectivement pour les CLLs impliquées (isotype monoclonal sécrété par le clone lymphocytaire B) et les CLLs non impliquées (isotype polyclonal résiduel). Le terme dFLC représentera la différence

CLLi – CLLni, et le ratio des chaînes légères impliquées correspondra au rapport CLLi/CLLni.

3. Dosage pondéral des CLLs:

3.1. Par anticorps polyclonaux : test Freelite®

Le test FreeLite® est actuellement la méthode de référence pour le dosage des CLLs, et le seul recommandé par les sociétés suivantes internationales.

Ce test mesure, par méthode immuno-néphélométrique automatisée, les concentrations sériques des chaînes k (N : 3,3-19,4 mg/L) et l (N : 5,7-26,3 mg/L) et calcule le ratio k/l (N : 0,26-1,65) [2]. Les anticorps (Ac) polyclonaux utilisés sont conjugués à des particules de latex, réagissant uniquement avec des épitopes cryptiques des chaînes légères, accessibles uniquement lorsque celles-ci sont de type libres. Ceci permet de réduire ainsi la réactivité croisée avec les chaînes

légères liées aux chaînes lourdes des Ig entières. De plus, l'utilisation d'Ac polyclonaux permet une plus large détection d'épitopes de CLLs, comparativement aux Ac monoclonaux. Le test FreeLite® fournit des résultats quantitatifs plus rapides (environ trente minutes) que l'EPS et l'IF du fait de l'analyse automatisée et est disponible sur un grand nombre de dispositifs d'analyses néphélométrique (dont Optilite® et SPAplus® de the Binding Site©).

Selon des données fabricant, le réactif a un seuil de détection de 3-4 mg/L de CLLs, donc nettement plus bas que celui de l'EPS et de l'IF.

La principale limite de ce test est liée aux variabilités des réactifs présents dans les différents lots et appareils de mesure. D'autre part, des résultats faussement élevés peuvent être observés en cas de polymérisation des CLLs [35], phénomène se produisant dans une petite proportion de patients atteints de gammopathie monoclonale. Ainsi, la formation de multimères au lieu de monomères ou dimères, agissant comme des cibles multi-antigéniques, accélère la formation d'agrégats. De rares faux négatifs peuvent aussi être observés en l'absence de détection d'« épitopes privés » de CLLs (épitopes cibles des Ac du test Freelite®, Cf.

Enfin, un effet « excès d'antigène » a été décrit en cas de concentrations très élevées de CLLs, qui vont alors modifier l'interaction antigènes-anticorps, entraînant la formation de complexes immuns plus petits et ainsi une sous-estimation des CLLs [35].

3.2. Par anticorps monoclonaux :

Deux tests utilisant des Ac monoclonaux ont été développés depuis 2011 dans le but de concurrencer le test Freelite®. Une moindre variabilité de lot à lot a été observée avec ces tests.

a. N Latex FLC assay®

Le N Latex FLC assay® est commercialisé par Siemens© depuis 2011. Le dosage n'est réalisable que par néphélométrie avec un panel d'appareils d'analyse disponibles moins important. Les concentrations sériques de référence des chaînes k et l pour ce test sont respectivement de 6,7-22,4 mg/L et de 8,3-27,0 mg/L, avec un ratio k/l de 0,31-1,56 [3]. Le test FreeLite® et le N Latex FLC assay® ne sont pas interchangeables dans le suivi sous traitement en raison d'une mauvaise correspondance entre les deux tests (81 % pour k et 74 % pour l) [36]. A notre connaissance, à ce jour, le N Latex FLC assay® n'a été validé que dans l'amylose AL, dans laquelle ses performances diagnostiques et pronostiques sont similaires à celle du test de référence Freelite® [37]. Dans le myélome, une seule étude portant sur quarante patients a comparé le N Latex FLC assay® au test Freelite®. Elle a montré une faible corrélation pour la mesure des CLLs k et l, un coefficient de concordance faible de 0,52 pour le ratio k/l, et une

sensibilité de détection inférieure au test Freelite® (41 % contre 62,5 %) lorsque le ratio k/l obtenu par chacune des méthodes était comparé aux résultats d'EPS, EPU, et IF sérique et urinaire [38]. De nouvelles études sont donc nécessaires avant de pouvoir recommander le N Latex FLC assay® en pratique clinique en dehors de l'amylose AL.

b. Test Seralite®

Le test Seralite® est commercialisé depuis 2016 par Abingdon Health©. Il utilise aussi des Ac monoclonaux anti-k et anti-l mais la méthode de détection se fait par ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) avec une technique d'inhibition compétitive limitant l'effet « excès d'antigène » [39]. Les concentrations sériques de référence des chaînes k et l sont respectivement de 5,2-22,7 mg/L et de 4,0-25,1 mg/L, avec un ratio k/l de 0,5-2,5 (données fabricant). Ses avantages sont la facilité de réalisation et la rapidité (résultat disponible en dix minutes). En comparaison au test Freelite® dans le MCL, les valeurs absolues de CLLs étaient différentes mais avec une concordance proche de 100 % au diagnostic et dans le suivi de la réponse thérapeutique avec la détermination de seuils propres (ex. augmentation de la dFLC >30 mg/L pour définir la rechute avec Seralite® et > 200 mg/L avec Freelite®) [40]. Il a aussi été évalué dans l'insuffisance rénale. Ainsi, le ratio k/l est adapté en cas d'insuffisance rénale sévère (N : 0,14-2,02), et une dFLC \geq 400 mg/L permet de porter le diagnostic de néphropathie à cylindres myélomateux (NCM) devant une insuffisance rénale aiguë et un ratio k/l anormal, avec une sensibilité de 91 % et une spécificité de 100 % [41].

Pour les mêmes raisons que précédemment, les tests Seralite®, Freelite® et le N Latex FLC assay® ne sont pas interchangeables dans le suivi de la réponse thérapeutique [42].

4. CLL urinaires et protéinurie de Bence-Jones:

Les CLL urinaires (CLLu) proviennent de l'excrétion urinaire des CLLs, et sont le constituant de la protéinurie de Bence Jones (PBJ) classiquement recherchée sur les urines de 24 h dans le myélome. La recherche de PBJ est effectuée par électrophorèse des protéides urinaires (EPU) et IF urinaire. Les CLLs étant réabsorbées en quasi-totalité au niveau du tubule proximal, la présence de CLLu nécessite que les CLLs dépassent les capacités de réabsorption tubulaire [43]. Les CLLu ne représentent donc qu'un marqueur indirect du changement des taux sériques des CLLs, et peuvent être négatives ou disparaître alors que les CLLs restent anormales. Ainsi la recherche de PBJ est supplantée par le dosage des CLL sanguines [44].

Chapitre 03: *Intérêt du dosage des chaînes légères libres sériques en pratique

1- Dans les pathologies clonales :

-Myélome:

1. Diagnostic :

Le myélome est défini, par opposition à la GMSI, par la présence de plus de 10 % de plasmocytes médullaires, et le plus souvent d'une gammopathie monoclonale. Parmi les myélomes à Ig intacte on distingue les formes indolentes (SMM, pour smoldering multiple myeloma), et les formes évolutives. Un ratio kappa/lambda anormal est observé dans 96 % des myélomes, alors qu'une gammopathie monoclonale n'est mise en évidence que dans 87 % des cas par EPS seule, dans 94 % des cas par EPS + IF, et dans 100 % des cas par EPS + IF + CLLs [44]. Plus clairement, cette différence de détection de 6 % entre 94 % et 100 % pourrait s'exprimer ainsi : pour détecter un myélome supplémentaire ou savoir s'il est mesurable uniquement sur les CLLs il faudrait réaliser dix-sept dosages de CLLs.

Les MCL représentent 20 % des myélomes [44]. Dans une étude portant sur 113 patients ayant un MCL, Dejoie et al. ont montré que la totalité de ces patients avaient un ratio kappa/lambda anormal et un taux de CLLi mesurable pour le suivi selon l'IMWG (≥ 100 mg/L) [46], mais que seulement 64 % avaient une PBJ en EPU mesurable pour le suivi (≥ 200 mg/24h) [45]. Ceci témoigne d'une meilleure sensibilité du dosage des CLLs comparativement à la PBJ pour la détection et le suivi des MCL. Le dosage des CLLs permet ainsi de pouvoir suivre les 36 % de patients ayant un MCL qui ne peuvent être suivis sur la PBJ, et remplace au moins dans ces cas l'EPU pour le suivi.

Enfin, environ 1 à 3 % des myélomes sont non sécrétant [44,47], définis par l'absence de composant monoclonal détectable par EPS/EPU et IF, associée à un ratio kappa/lambda normal [47].

Le critère de normalité du ratio, ajouté récemment, a permis de reclasser une majorité de patients étiquetés « non sécrétant » en MCL [48]. Le dosage des CLLs est donc nécessaire devant un myélome sans pic monoclonal, afin d'en vérifier le caractère sécrétant ou non, cette distinction ayant un impact sur le pronostic, la méthode de suivi, et la thérapeutique (les patients

ayant un véritable myélome non sécrétant étant exclus des essais thérapeutiques Le dosage des CLLs est donc obligatoire lors du bilan initial d'un myélome sans pic monoclonal, ou d'un myélome avec pic sans critère CRAB afin de déterminer si le ratio CLLi/CLLni est supérieur à 100 (Cf. paragraphe suivant Thérapeutique). Il est recommandé mais non obligatoire devant un myélome avec pic et présence d'au moins un critère CRAB.

2. Thérapeutique :

Un ratio CLLi/CLLni > 100, indépendamment d'une atteinte osseuse, rénale, d'une anémie ou d'une hypercalcémie, est associé à un risque de progression d'un SMM en myélome de 80 % à deux ans, et fait ainsi partie des nouveaux critères d'initiation de traitement dans le myélome, qui ont remplacé la classification de Salmon et Durie [44].

3.Pronostic :

Le risque de progression d'un SMM en myélome est de 10 % par an durant les cinq premières années, puis de 3 % par an les cinq années suivantes, et de 1-2 % par an pour les dix années suivantes [49]. Un ratio CLLi/CLLni > 8 (mais < 100) est associé à un risque significatif de progression vers le myélome ou l'amylose AL (OR 2,3 ; IC 95%, 1,6-3,2) [50], de 40 % à deux ans [25]. Le ratio des CLLs fait ainsi partie des critères de SMM à haut risque évolutif, avec un impact thérapeutique : plutôt qu'une abstention thérapeutique, un traitement individualisé tend à être proposé à ces patients à haut risque évolutif actuellement, dans le cadre d'essais thérapeutiques.

Suivi et progression précoce du myélome à Ig intact l n'existe pas de différence en termes de mortalité d'un suivi précoce sur les CLLs par rapport à un suivi classique par électrophorèse [51]. Bien que le dosage des CLLs dans le suivi des myélomes ne figure actuellement pas dans les recommandations, il est de plus en plus utilisé. Ceci a notamment permis de mettre en évidence un phénomène de sélection clonale(light chain escape). Ainsi, chez certains patients, la rechute du myélome s'accompagne d'une élévation des CLLs, sans réapparition ou ré-augmentation de l'Ig monoclonale intacte, ou alors survenant de façon retardée. Au cours de l'évolution du myélome, près de 12 % des patients vont ainsi passer de la sécrétion d'une Ig intacte à une CLL [52], avec une survie médiane significativement réduite par rapport aux patients rechutant sous la forme d'une Ig intacte isolée [53].

Pour les patients en réponse complète (normalisation de l'EPS et de l'EPU), le dosage des CLLs semble plus efficace pour diagnostiquer la rechute [54], mais est actuellement sans impact thérapeutique.

4. Suivi de la réponse au traitement:

Concernant les myélomes à Ig intacte, la normalisation du ratio k λ fait partie des critères de réponse stringente de l'IMWG [55]. Cependant l'impact de ces critères sur la survie globale par rapport à une réponse complète est débattu, et une étude rétrospective récente a mis en évidence un ratio anormal chez 12 % de myélomes autogreffés considérés néanmoins en réponse stringente car n'ayant aucun autre signe de myélome (incluant une maladie résiduelle négative) [56].

Concernant les MCL, devant l'absence de pic à l'EPS, le suivi de la réponse sous traitement se fait par le dosage des CLLs qui est par ailleurs plus sensible que l'EPU [43]. Un ratio k λ anormal après trois cycles de traitement est associé à une moins bonne survie sans progression ($p < 0,0001$) et à une diminution de la survie globale ($p = 0,022$) [12].

-Néphropathie à cylindres myélomateux:

Les experts recommandent le dosage des CLLs dans le bilan initial et pour le suivi de la réponse thérapeutique dans la NCM. En effet, la réponse hématologique dans la NCM est évaluée sur le pourcentage de diminution des CLLs, et un taux de CLLs inférieur à 500 mg/L (seuil de formation des cylindres) après le premier cycle de chimiothérapie est un facteur indépendant de sevrage de la dialyse à un an (OR 3,0 ; IC95%, 1,25-7,18) [43]. Par ailleurs, la majorité des NCM est due à des MCL, de part leur fort taux de production de chaînes légères néphrotoxiques [43]. L'intérêt du dosage des CLLs est donc clair dans la NCM, tant sur le plan diagnostique (MCL), pronostique, que thérapeutique (méthode d'évaluation de la réponse).

-Plasmocytome :

Le dosage des CLLs pour le diagnostic est inutile car peu sensible dans ce cas comparativement à l'EPS (55 % contre 72 % respectivement) [46]. En revanche, son intérêt est pronostique, un ratio k λ anormal étant un facteur de risque de progression vers le myélome (44 % contre 26 % à cinq ans, $p = 0,039$) [45]

Gammopathie monoclonale de signification indéterminée:

1. Diagnostic:

Avec une sensibilité diagnostique de 42 %, nettement inférieure à celle de l'EPS (82 %), le dosage des CLLs seul a peu d'intérêt pour le diagnostic de la majorité des GMSI [46]. Il est cependant indispensable au diagnostic de GMSI à chaînes légères, représentant environ 20 % des cas de GMSI, où sa sensibilité est de 100 % [46] et où la présence de CLLi peut être prise en défaut par l'EPS + IF seules. Les GMSI à chaînes légères ont un risque de progression maligne plus faible que les GMSI à Ig entière (0,3 % par an et 0,5-1 % par an respectivement). Ainsi, certains auteurs suggèrent de surseoir au myélogramme chez les patients avec GMSI à chaînes légères en cas de ratio CLLi/ni < 8 du fait du faible risque de progression vers un myélome [57].

2. Pronostic:

Un ratio k/λ anormal est un facteur de risque indépendant de progression dans les GMSI (HR 3,5 ; IC 95%, 2,3-5,5) [58]. L'isotype de l'Ig monoclonale, sa concentration, et le ratio k/λ permettent de stratifier les GMSI en quatre catégories selon le risque de progression à 20 ans vers un myélome [51,58]. Une autre étude portant sur 728 patients avec GMSI, a confirmé l'intérêt de ces facteurs et a montré que l'immunoparasie (diminution du taux sérique d'un ou de deux isotypes d'Ig entière(s) non impliquée(s)) était aussi un facteur associé à la progression vers le myélome, après ajustement sur ces trois facteurs (HR 2,79 ; IC 95%, 1,73-4,52) [59]. Néanmoins, compte tenu du coût, le dosage des CLLs dans cette indication est principalement réservé à des patients sélectionnés avec d'autres facteurs de risque de progression, d'autant plus que la présence d'un seul facteur de risque ne modifie pas de manière significative la prise en charge de ces patients.

3. Suivi :

Dans les GMSI, le dosage des CLLs est inutile pour le suivi [51, 44,60], hormis dans les GMSI à chaînes légères puisqu'elles ne peuvent être suivies sur le pic. Bien que le risque de progression vers un myélome soit faible (0,3 % par an), les recommandations d'experts proposent un dosage des CLLs à 6 mois puis une fois par an pour le suivi, compte tenu du risque élevé de NCM (23 % des patients) [44,61].

-Amylose AL:

Les CLLs sont les précurseurs des fibrilles amyloïdes dans l'amylose AL.

Au diagnostic, l'association EPS + EPU + IF + CLLs permet d'obtenir une sensibilité de 100 % pour l'identification du composant monoclonal circulant, contre 96 % pour l'EPS +EPU + IF [42], et 75-98 % selon les études pour les CLLs seules.

Une dFLC > 180 mg/L est un facteur pronostique indépendant, associé à une survie globale de 10,9 mois contre 37,1 mois si dFLC < 180 mg/L ($p < 0,001$) [43]. La stratification du risque inclut désormais les trois critères suivants : i) dFLC > 180 mg/L; ii) troponine T ³ 0,025 ng/mL ; et iii) NT-ProBNP ³ 1800 pg/mL.

La dFLC permet aussi de définir quatre catégories de réponse hématologique, corrélées à la mortalité : i) réponse complète (ratio k/l normal + IF sérique et urinaire négatives) ; ii) très bonne réponse partielle (dFLC < 40 mg/L) ; iii) réponse partielle (baisse de la dFLC > 50 %) ;et iv) pas de réponse [62].

-Maladie de dépôt des chaînes légères:

Selon l'étude de Katzmann et al. le dosage des CLLs fait aussi bien que l'EPS + EPU+ IF sérique et urinaire pour la détection de l'Ig monoclonale, avec une sensibilité n'étant que de 78 %, probablement en rapport avec une faible quantité circulante d'Ig monoclonale et/ou au dépôt rapide des CLLs dans le rein. L'ajout du dosage de CLLs à l'EPS + EPU + IF sérique et urinaire permet selon cette étude de gagner légèrement en sensibilité en atteignant 83 % [48]. Ce gain de détection de 5 % signifie que pour détecter une gammopathie monoclonale supplémentaire devant une maladie de dépôt des chaînes légères il faudrait réaliser vingt dosages de CLLs. Depuis, plusieurs études ont montré que le ratio était anormal dans 100 % des maladies de dépôt de chaînes légères, appuyant davantage l'intérêt du dosage des CLLs dans le bilan initial de cette pathologie.

La diminution du taux des CLLs est associée à une progression plus lente vers l'insuffisance rénale terminale et une absence de récurrence post-transplantation rénale [63].

-Insuffisance rénale et monoclonalité:

En cas d'insuffisance rénale aiguë sans étiologie évidente, un dosage des CLLs est recommandé par l'International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group afin de dépister une gammopathie monoclonale sous-jacente potentiellement responsable de la néphropathie. Un taux de CLLs k ou l > 500 mg/L est en faveur d'une néphropathie tubulo Interstitielle induite par les CLL. A titre de comparaison, l'IMWG recommande un seuil similaire de CLLs monoclonales (500-1500 mg/L) pour l'identification des NCM [64].

Par ailleurs, les experts recommandent le dosage des CLLs lorsque l'on suspecte une gammopathie monoclonale de signification rénale, c'est-à-dire une néphropathie induite par l'immunoglobuline monoclonale sécrétée par un clone B indolent [62].

Absence d'indication :

1. Maladie de Waldenström:

Le dosage des CLL a peu d'intérêt global dans la MW. En effet, sa sensibilité seule pour le diagnostic est de 73-83 %, contre 100 % pour l'EPS qui a de plus un coût inférieur.

En terme de pronostic ou de suivi, le dosage des CLLs n'a par ailleurs aucun impact clinique [65,66].

2. Remarque:

Le dosage des CLLs, quelle que soit l'indication, est pour le moment uniquement remboursé en secteur hospitalier. En ville, sa réalisation est donc à la charge du patient avec des tarifs non uniformisés, autour de 100 € dans notre expérience pour le dosage des CLLs.

A ce jour, une seule étude de coût-efficacité du dosage des CLLs a été réalisée. Cook et al ont développé en 2014 un modèle pharmaco-économique d'évaluation du dosage des CLLs par le test Freelite® dans la détection précoce de la NCM chez les patients se présentant avec une insuffisance rénale aiguë inexplicée. Cette étude a comparé l'algorithme de détection recommandé par l'IMWG (EPS + CLLs) à différents tests : EPS seule, EPS + EPU, et EPS +EPU + IF sérique et urinaire. Le couple EPS + CLLs présentait la meilleure balance coût/efficacité, avec des gains en termes de coûts et d'années de vie, pondérés par la qualité (**indicateur QALY**).

De plus, nous pouvons supposer que le test Freelite® permette des économies dans la prise en charge des GMSI via une stratification du risque d'évolution. En effet, une GMSI à bas risque (Cf. précédemment) ne nécessite pas de myélogramme ni de bilan osseux radiologique, et une surveillance clinico-biologique moins rapprochée. Étant donné qu'environ 50 % des patients atteints de GMSI sont à bas risque au diagnostic [35], cette stratification permettrait une diminution des coûts de santé sans impacter le pronostic des patients.

Par ailleurs, un ratio $k/1 > 100$ dans le myélome étant un critère d'évolutivité posant l'indication précoce de traitement [50], ceci pourrait permettre d'anticiper l'apparition de complications notamment rénales, sources de morbi-mortalité significative et de diminution de la qualité de vie.

Cependant, la surutilisation inappropriée du test Freelite® semble fréquente et coûteuse pour le système de santé. Ainsi dans une étude monocentrique de Heaton et al. de 2016 [67], seuls 42 % des tests Freelite® étaient justifiés. Les tests non justifiés étaient réalisés dans 97 % des cas pour le suivi d'un pic monoclonal détectable en EPS. Cette surutilisation inappropriée était responsable d'un coût significatif pour le système de santé.

-Résumé d'intérêt RLFC dans les GM:

L'apparition du dosage des CLLs a révolutionné la prise en charge des patients atteints de dyscrasies plasmocytaires. Les principales indications « historiques » du dosage en pathologie hématologique restent le diagnostic et le suivi du myélome, le diagnostic des GMSI, et le suivi de la réponse thérapeutique dans l'amylose AL. Sur les trois tests disponibles à ce jour, seul le test Freelite® a validé l'ensemble de ces résultats. S'il est 506 utilisé dans les indications correctes, le dosage des CLLs apporte ainsi une information permettant de modifier la prise en charge des malades. Progressivement, le dosage des CLLs voit ses indications s'élargir, notamment dans les pathologies non tumorales comme la SEP, et peut être prochainement d'autres pathologies auto-immunes comme le lupus, avec un intérêt particulier porté à l'évaluation de la réponse au rituximab. Néanmoins le niveau de preuve dans les maladies auto-immunes reste assez faible et nécessite une meilleure évaluation afin de cerner les situations dans lesquelles ce dosage pourrait apporter une information modifiant la prise en charge des malades.

PARTIE PRATIQUE

OBJECTIFS DE L'ETUDE:

Objectif principal :

Évaluer l'intérêt de la recherche des protéines de bence johns dans le diagnostic et le pronostique des gammopathie monoclonales.

Objectifs secondaires :

-Etablir la présence de la PBJ entre les différents stades pronostiques au niveau urinaires chez des patients atteints de myélome multiple.

--Etablir d'éventuelle meilleure test urinaire(PBJ) ou sérique (FLC) dans le diagnostic et le suivi de traitement des patients atteints de gammopathies monoclonales.

Chapitre 01: MATERIELS ET METHODES

1. Type d'étude:

Notre travail est une étude prospective descriptive et analytique (court terme), étalée sur une période de 9 ans allant de Janvier 2013 à avril 2022. Cette étude est réalisée au niveau de l'unité immunologie du centre hospitalier universitaire(CHU) Hassiba BEN BOUALI Blida.

2. Population de l'étude :

2.1. Patients :

Nous avons inclus 2409 cas de GM répertoriés à l'unité d'immunologie de CHU Hassiba BEN BOUALI Blida et pour lesquels un dossier médical était exploitable.

1- Recueil des données :

Le recueil des données a été effectué par analyse des dossiers de l'unité d'Immunologie de CHU. Pour chaque patient plusieurs paramètres ont été recueillis puis regroupés et intégrés dans une base de données informatique.

-Les caractéristiques épidémiologiques :

Noms et prénoms, âge, sexe, date de diagnostic, service de provenance, les résultats des analyses biologiques, réalisées dans le cadre du diagnostic, mais également pour l'évaluation pronostique:
la protidémie, l'électrophorèse des protéines sériques (EPS) (zone de migration, taux du composant monoclonal), l'immunotypage sérique, le dosage pondéral des immunoglobulines (Ig) , la recherche et l'identification de la Protéinurie de Bence Jones (PBJ), complications et traitement

Paramètres de Pronostic:

RFLC et B2M

2- Critères de sélection :

- Critères d'inclusion :

Notre étude a inclus les patients ayant consulté au service d'hématologie du Centre Anti cancer (CAC) de Blida, répondant au critère diagnostique de l'IMWG pour le MM (ANNEXE) et ayant bénéficiés d'un suivi régulier à notre niveau.

- Critères d'exclusion :

Les autres types des hémopathies malignes ont été exclus de notre étude.

Les dossiers incomplets ou inexploitable ont été systématiquement exclus de l'étude.

3- Analyse des données :

L'analyse des données est effectuée en utilisant le logiciel l'Excel 2007. Nous avons effectué une analyse descriptive des caractéristiques sociodémographiques, biologiques, thérapeutiques et évolutives des patients. Pour les variables quantitatives, nous avons calculé les moyennes et écarts types.

III- MATERIELS :

1- Matériel biologique :

Le sang est prélevé sur tube sec après ponction veineuse, puis coagulé .Le sérum est obtenu après centrifugation (3600 tours pendant 10 minutes). La conservation se fait à +4°C dans la sérothèque du laboratoire.

Les échantillons urinaires analysés sont d'un recueil de 24h.

2- Matériel non biologique :

- Automate d'électrophorèse et d'immunofixation **SAS1/SAS2 Helena**.
- Automate **SPA Plus** pour la turbidimétrie Laser .

IV- METHODES :

1- L'électrophorèse des protéines sur gel d'agarose :

Principe :

La technique utilisée est semi-automatisée, elle est réalisée sur gel d'agarose, support dans lequel les protéines migrent selon leur taille et leur charge électrique. Le PH du tampon se situant entre 8 et 9, les protéines se comportent comme des anions. Plus le PH du tampon s'écarte du point isoélectrique d'une protéine, plus la migration de cette protéine sera importante vers l'anode. La lecture se fait sur densitomètre dans lequel la bande d'électrophorèse passe entre une source lumineuse et une cellule photoélectrique, la quantité de la lumière parvenant à la bande est inversement proportionnelle à la quantité du colorant présent

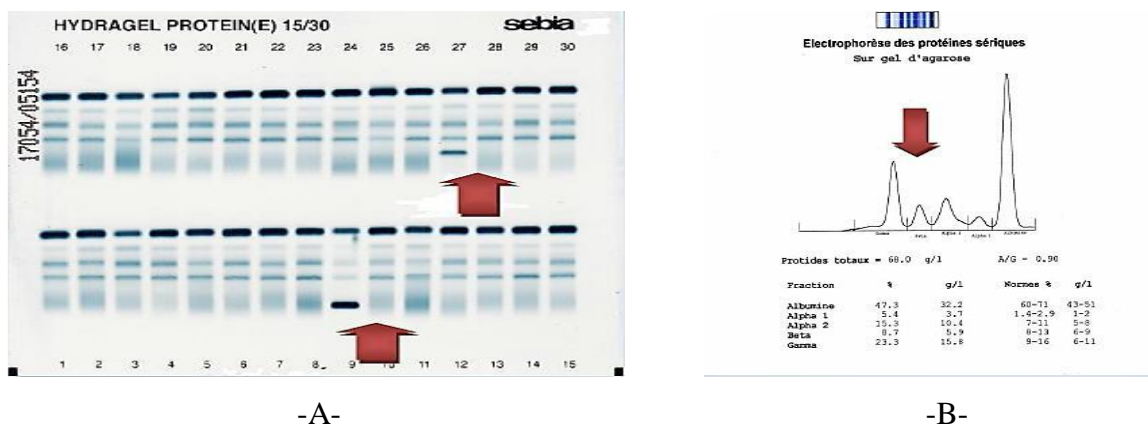
sur celle-ci. On admet en première approximation que cette quantité de colorant est elle-même proportionnelle à la quantité de protéines présentes .

Technique

L'électrophorèse des protéines urinaires sur gel est réalisée par une technique semi automatisée utilisant l'automate HELENA SAS-1 Urine analysis.

L'électrophorèse par le SAS - 1 permet la migration et la séparation des protéines sériques en tampon alcalin (PH=8) sur un gel d'agarose prêt à l'emploi « Electrophoresis Gel ».

HELENA SAS-1 sépare les protéines sériques selon leur charge moléculaire en gel d'agarose.



A: Résultat de la migration des protéines sériques sur gel d'agarose /Hydragel protéine30

B: Protidogramme illustrant l'intégration densitométrique du cas n°27 sur le gel d'agarose

Figure 24 : Résultat d'une EPS réalisée sur gel d'agarose ((Laboratoire de biochimie, HMIMV ; 2011).

Mode opératoire

- Pipeter 35µl d'échantillon dans les puits correspondants sur le porte échantillon du SAS1 ou dans les cupules échantillons jetables ;
- Placer avec précaution le porte-échantillon sur le chariot applicateur du SAS-1 ou à l'aide des ergots de guidage de l'embase du SAS-1. S'assurer qu'il est solidement mis en place ;
- Sortir le gel de son emballage protecteur, retirer le film en plastique ;
- Placer le guide d'alignement sur les picots de SAS-1 ;
- Déposer 2 ml de REP-prep au centre de la chambre SAS1 ;
- Placer le gel dans la chambre agarose vers le haut en respectant les polarités et en veillant à ce qu'il n'y ait pas de bulles d'air sous le gel

- Sortir le gel de son emballage protecteur, retirer le film en plastique ;
- Placer le guide d'alignement sur les picots de SAS-1 ;
- Déposer 2 ml de REP-prep au centre de la chambre SAS1 ;
- Placer le gel dans la chambre agarose vers le haut en respectant les polarités et en veillant à ce qu'il n'y ait pas de bulles d'air sous le gel ;
- Sécher la surface du gel à l'aide d'un buvard C, jeter le buvard ;
- Fixer les électrodes sur la partie supérieure des plots de sorte qu'elles soient en contact avec les ponts d'agarose.
- Mettre en place 2 applicateurs dans l'instrument SAS-1 : encoche A et 10 ;
- Réaliser l'électrophorèse;
- Une fois la migration terminée enlever les électrodes et les ponts d'agarose à l'aide de la raclette ;
- Fixer le gel sur le support de la chambre de coloration SAS-2 ou SAS-4 ;
- Sélectionner le programme protéine sérique du module de coloration puis, en suivant les messages, colorer, décolorer et sécher le gel ;
- Une fois le cycle de coloration terminé, enlever le gel du support de la chambre de Coloration.
- Sécher dans une étuve ventilée entre 60 et 70°C ;
- La membrane est alors prête pour être examinée



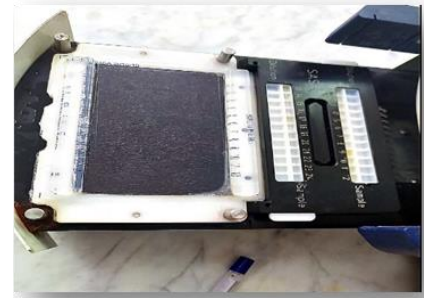
Figure 25 : HELENA SAS-1 Urine analysis



a. 35 μ l du l'urine



b. porte échantillon



c. Emplacement du Porte Échantillon (A) et le gel (B)

Figure 26 : électrophorèse sur SAS-1 des protéines urinaires

2-L'immunofixation :

Principe :

L'immunofixation est une technique d'immunoprécipitation en gel. Sur les gels sont prédéfinies des pistes de migration électrophorétiques sur lesquelles sont déposés les échantillons plus ou moins dilués. Après séparation électrophorétique des constitutions du sérum, les différentes pistes sont incubées en présence d'antisérums spécifiques (selon la NABM, le diagnostic d'une Ig mc par immunofixation nécessite l'emploi d'au minimum 5 antisérums monospécifiques). L'Ig, lorsqu'elle est présente, est immunoprécipitée dans le gel. Après lavage, l'application d'un colorant des protéines permet de visualiser la réaction. .

Elle est recommandée pour la détermination de l'isotype de la protéine de Bence Jones et/ou du composant monoclonal entier s'il y a une protéinurie non sélective.

L'immunofixation est une technique réalisée en deux étapes combinant l'électrophorèse à l'immunoprécipitation : L'électrophorèse réalisée en premier temps sur gel d'agarose permet de séparer les protéines selon leur taille et leur charge. L'immunoprécipitation permet l'identification du composant monoclonal à l'aide d'anti-sérums spécifiques anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-kappa et anti-lambda. Les immun-complexes formés sont révélés par coloration.

Technique

L'immunofixation urinaire est réalisée par une technique semi-automatisé utilisant les deux automates HELENA SAS-1 et SAS-2

Dont le matériel fourni est :

- Plaque SAS-1 (gel d'agarose prêt à l'emploi).
- Colorant violet Acide.
- Solution décolorante.
- Solution de lavage.
- Antisérums IFE.

Mode opératoire

Technique semi-automatisé comprenant:

1. L'application d'échantillons,
2. la migration électrophorétique,
3. l'immunofixation, effectuée à l'aide d'anticorps afin d'identifier de façon précise la nature de la fraction protéique ou de la bande monoclonale, l'échantillon est testée sur huit pistes. Après électrophorèse, la piste ELP donne le profil global des protéines urinaires à l'aide de la précipitation par le fixateur.

Les huit autres pistes permettent de caractériser les protéines urinaires ou les bandes monoclonales à l'aide des antisérums des différentes spécificités :

- anti-protéines tubulaires (anti- β 2 microglobuline, anti-Retinol Binding Protein (RBP) et anti- α 1, microglobuline),
- anti-protéines glomérulaires (anti-albumine et anti- α 2 macroglobuline),
- antisérums trivalent anti-chaînes lourdes [γ , α et μ (Ig G, A et M)],
- anti-chaînes légères Kappa et Lambda (libres et liées) et,
- anti-chaînes légères libres Kappa et Lambda.

Cette technique simple et rapide donne une image claire et très facilement interprétable (Figure 27 : 12a et 12b).

4. la coloration,
5. la décoloration,
6. Et la numérisation, connectée au logiciel PHORESIS pour la gestion des données et des résultats.

7. Lecture: Une gammopathie est caractérisée par une bande étroite bien délimitée détectée avec l'anti-chaîne lourde (gamma, alpha ou mu) et avec l'une des anti-chaînes légères (kappa ou lambda). La fraction monoclonale mise en évidence, généralement étroite, bien délimitée et bien visible, doit être située au même niveau de migration que la bande détectée sur la piste de référence (ELP) (Figure 12c) [68].

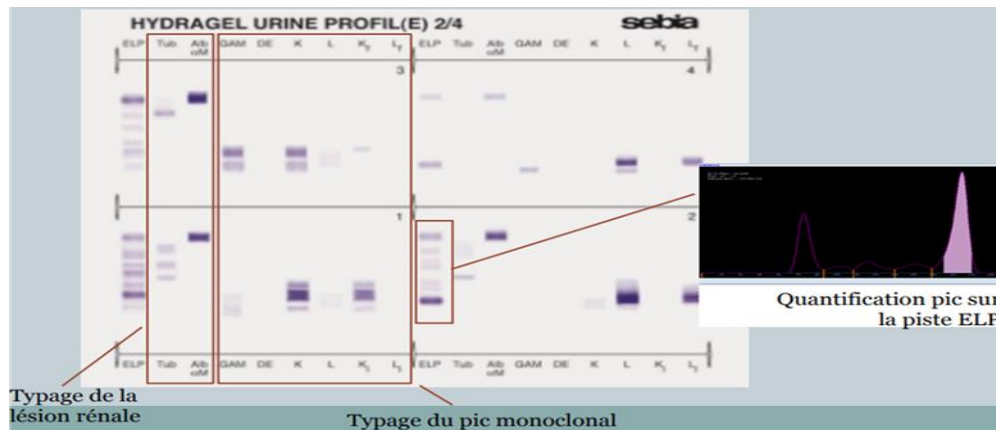
8. Intérêt médical et scientifique :

L'étude de la protéinurie constitue une aide précieuse au diagnostic des atteintes rénales. La protéinurie pouvant résulter de nombreuses conditions pathologiques, il est indispensable d'identifier les principales protéines urinaires afin de typer une atteinte tubulaire, glomérulaire ou mixte, ou de dépister une protéine de Bence Jones. (Référence: Unilab Lg. BELAC n° 128-MED/TEST)

		Urines de 24-heures (n= 284)				
		Physiologique	Tubulaire	Glomérulaire	Mixte	Surcharge
Urines du matin (n=284)	Physiologique	185	0	0	0	0
	Tubulaire	0	10	0	0	0
	Glomérulaire	1	0	33	1	0
	Mixte	0	2	0	20	0
	Surcharge	0	0	0	0	32

- **Protéinurie physiologique:** Présence de traces d'albumine,
- **Protéinurie tubulaire:** Présence d' α 1 microglobuline, de RBP et/ou de β 2 microglobuline +/- CLL,
- **Protéinurie glomérulaire:** Présence de protéines de haut poids moléculaire comme l'albumine ou les Ig (monoclonales ou polyclonales),
- **Protéinurie mixte:** Présence de protéines d'origine tubulaire et glomérulaire,
- **Protéinurie de surcharge:** Présence de protéine de Bence Jones uniquement.

Excellente corrélation pour la quantification du pic coeff.



Ref. Dr Pascal BOULARD, Exerçant à EVOLAB Thionville, France., Urines du matin comme alternative aux urines de 24 heures ? Evaluation des lésions rénales, comparaison de la détection du pic monoclonal et de sa quantification; 44^{ème} Colloque National des Biologistes des Hôpitaux Nantes, 23-25 septembre 2015

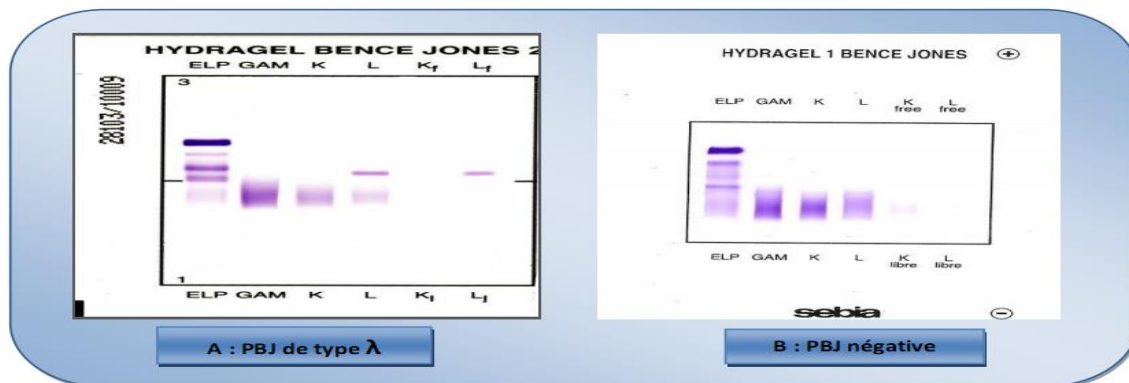


Figure 27 : Résultat de la recherche de le PBJ par IF des protéines urinaires (MOUHIM,2011)

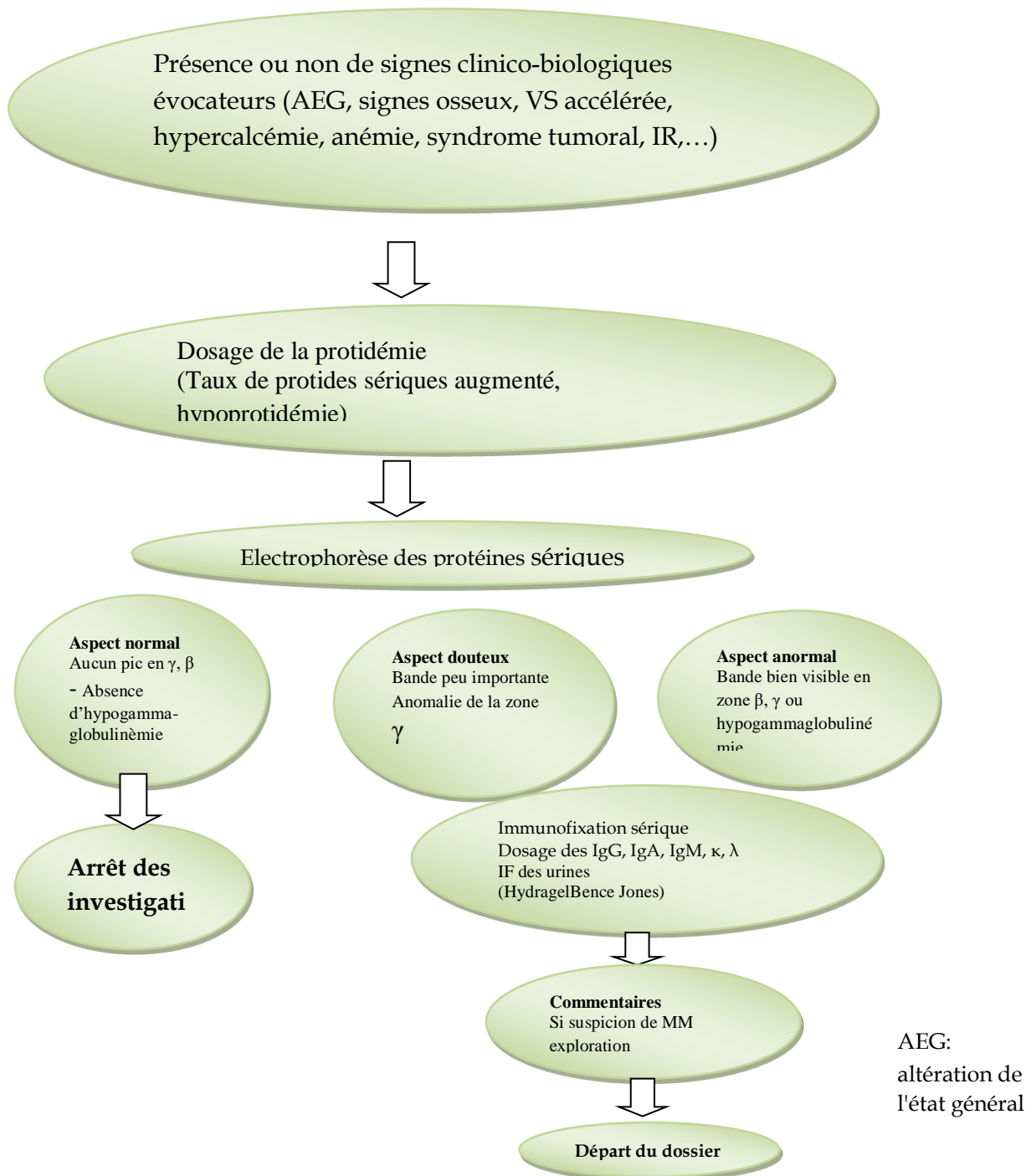
Il faut noter que les résultats des IF sont interprétés par au moins deux biologistes du service après discussion permettant de confronter les données cliniques et biologiques et aboutissant à un accord pour l'interprétation finale des profils.

3-La néphélométrie Laser :

Principe :

L'Immunonéphélométrie à rayon laser est réalisée sur un néphélomètre, elle est basée sur la mesure de la dispersion d'un rayon LASER par complexes immuns formés en milieu liquide. Le LASER (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) est un émetteur de lumière monochromatique dans le visible ou l'infrarouge, cohérente, possédant une intensité élevée et susceptible d'être concentrée en un réseau très fin. Lorsque l'on met dans la cuve de mesure une protéine et l'antisérum spécifique correspondant, et, dans certaines conditions opératoires (milieu réactionnel, nature et concentration des réactifs, temps des réactions, température...), l'intensité des rayons dispersés est proportionnelle à la quantité de complexes immuns formés. [79]

Démarche diagnostique PRATIQUE:



-Analyse et traitement des données

Les données ont été saisies et traitées par les logiciels Excel 2007.

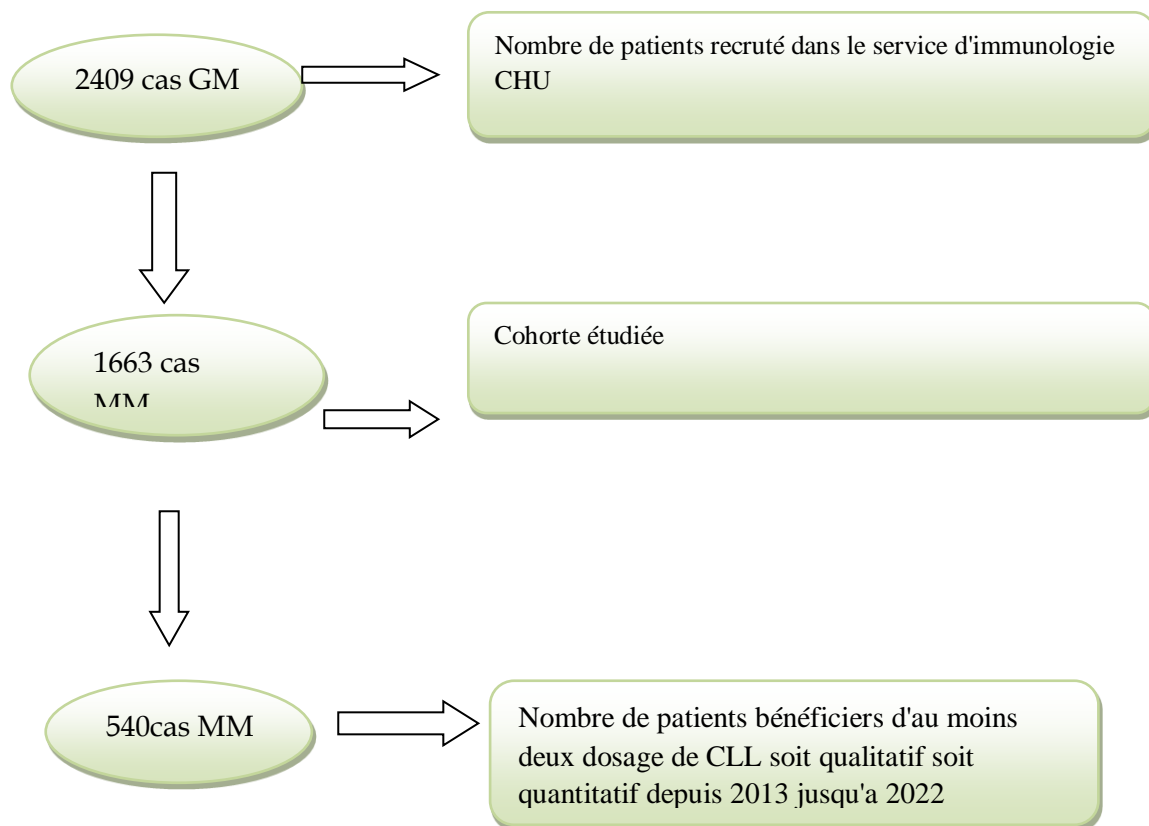
Les résultats sont reportés dans des tableaux, ou représentés sous formes d'histogrammes, de secteurs ou de barres.

Chapitre II : Résultats et Discussions

Caractéristiques générales de la population étudiée:

Il s'agit d'une étude rétrospective. Les dossiers ont été sélectionnés en utilisant la banque de donnée des archives du service .La période de recherche s'étende de 2013(année du début d'archivage des dossiers des patients atteints de GM) jusqu' au avril 2022.

Le nombre des patients atteints de GM recruté durant cette période est égal à 2409.



1-Répartition des patients selon le sexe:

La répartition de notre série de 2409 patients en fonction du sexe a révélé:1254 cas; soit 52% étaient de sexe féminin alors que1155cas, soit 48%étaient de sexe masculin, avec un sex ratio H/F de 0.92.Nous avons donc noté une légère prédominance féminin.

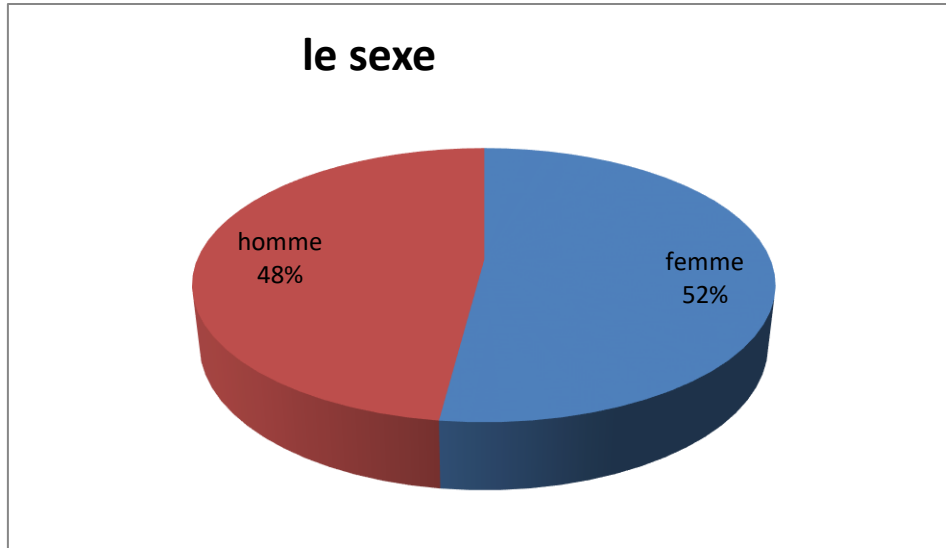


Figure 28 : la répartition selon le sexe

2-Répartition des patients selon les différentes tranches (l'âge):

L'âge au moment du diagnostic des cas des GM de la population étudiée varie entre 19 et 105 ans, avec moyenne d'âge 68 ans dans la tranche 60 ans jusqu'a 70 ans.

Un maximum de fréquence est observé dans la tranche d'âge comprise entre 70 et 80.

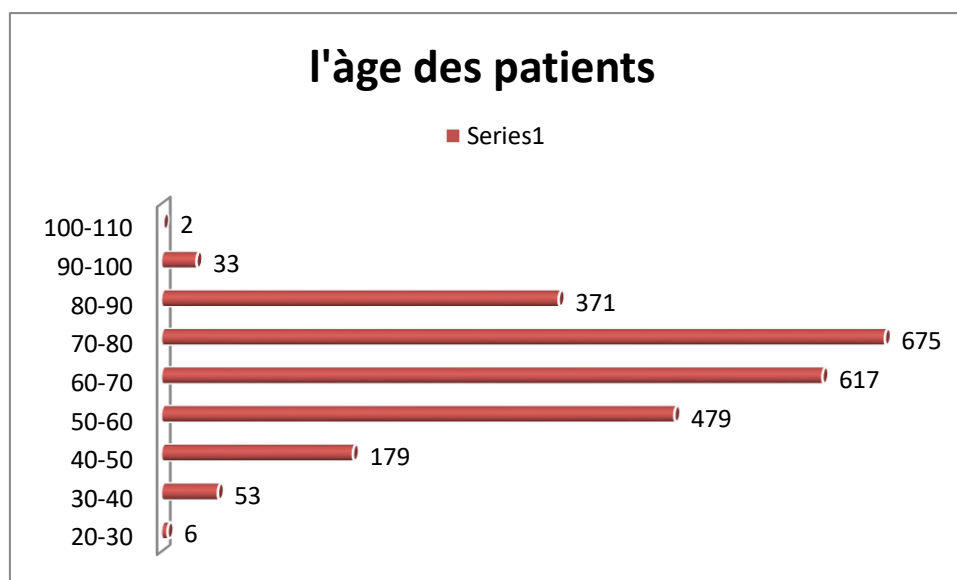


Figure 29: La distribution des malades selon les tranches d'âge

-POUR LES FEMMES:

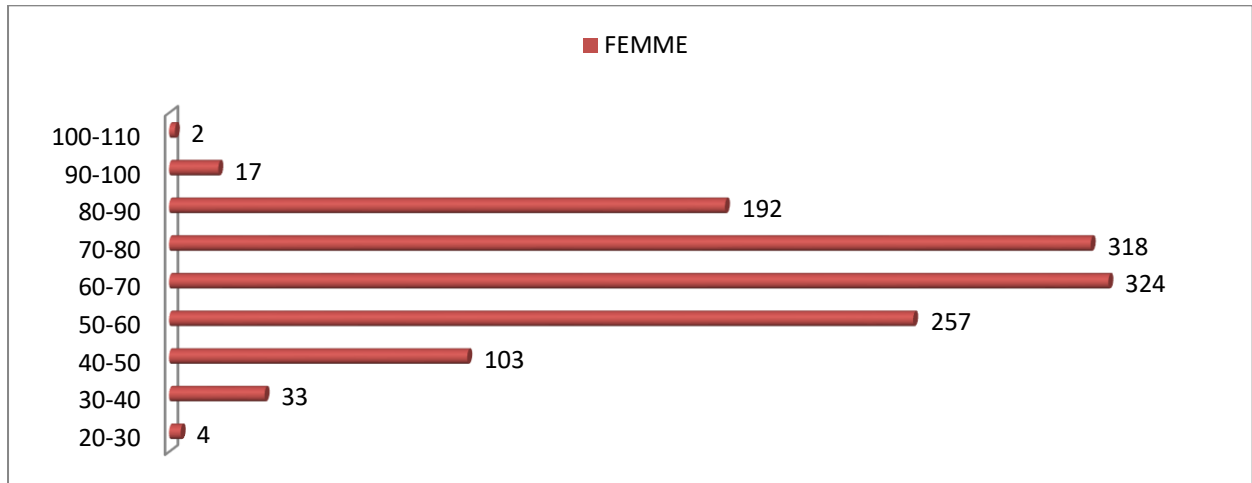


Figure 30 : répartition des cas de GM selon les tranche d'âge pour femme

On remarque que: une moyenne d'âge 66 ans dans la tranche 60 ans jusqu'a 70 ans.

Un maximum de fréquence est observé dans la tranche d'âge comprise entre 60-70 et 70- 80.

Pour l'homme:

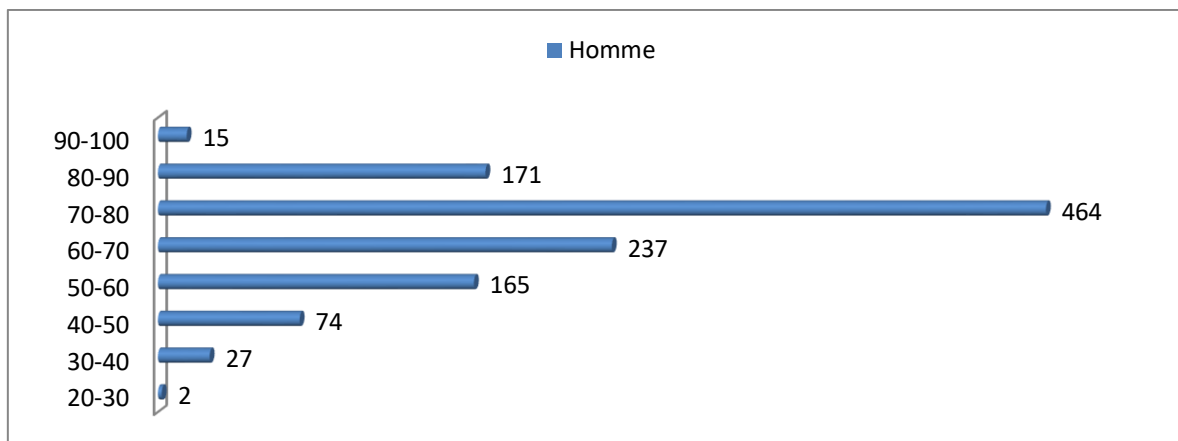


Figure 31 : répartition des cas de GM selon la tranche d'âge pour Homme

On remarque que: une moyenne d'âge 69 ans dans la tranche 60 ans jusqu'a 70 ans.

Un maximum de fréquence est observé dans la tranche d'âge comprise entre 70 et 80 ans. Au contraire, depuis l'âge de 73 ans, on a constaté une prédominance masculine de la maladie.

3. Répartition selon les services de recrutement:

-Nous avons recruté 741 patients à partir du service cancéreux, et 1004 patients externes, 9 patients de service neurologie, et 16 patients de service rhumatologie et 639 patients de service hématologie.

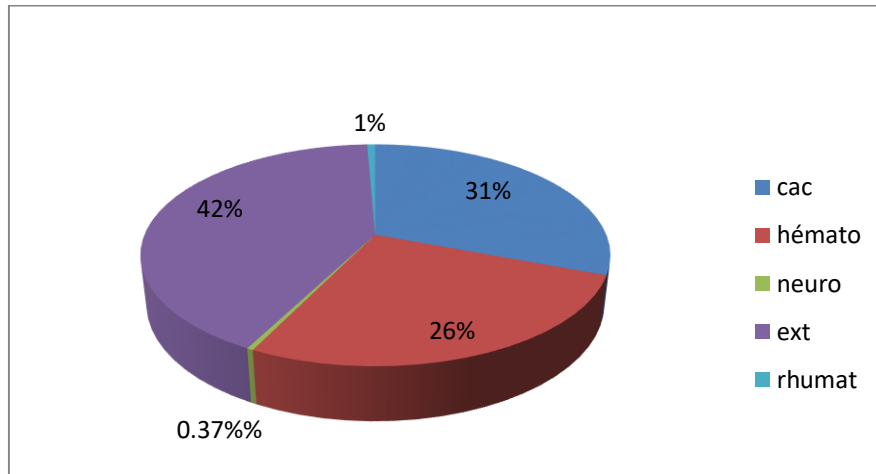


Figure 32 : la répartition des GM selon le service

La plupart de nos patients provient de l'extérieure.

4. répartition selon la localisation électrophorétique

- 2175 patients atteints GM avec un seul clone ; 1809 on position gamma , 366 on position béta,7 on position alpha 2 .

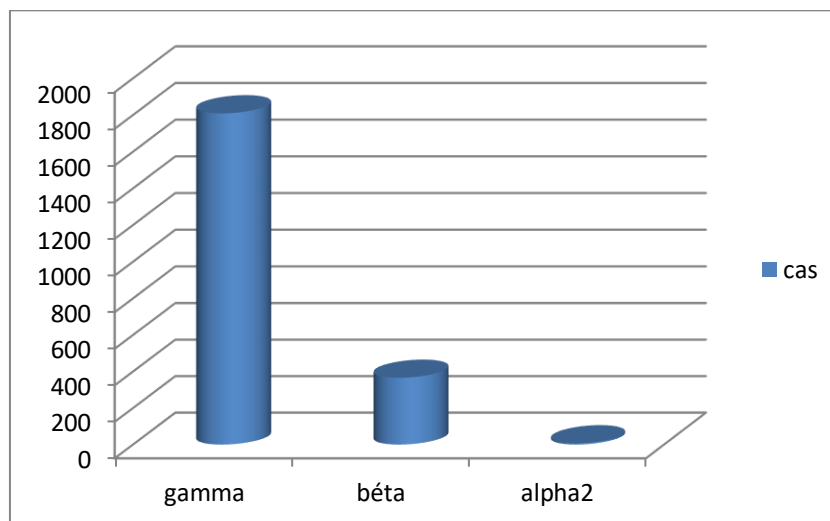


Figure 33 : Répartition des patients selon les résultats de l'immunotypage.

Concernant la distribution l'immunotypage des GM de notre série , on remarque la prédominance pour les GM monoclonale en principe la région Gamma qui représente 80%, suivi parla région bêta avec 16 suivi alpha 2 qui représentent 0.3% des cas.

5-Répartition selon l'isotype:

- 151 patients avec suspicion de GMCL ;
- 1343 patients atteints de GM avec un seul clone ;
- 70 patients atteints de GM biclonales ; 3 patient atteint de GM triclonales

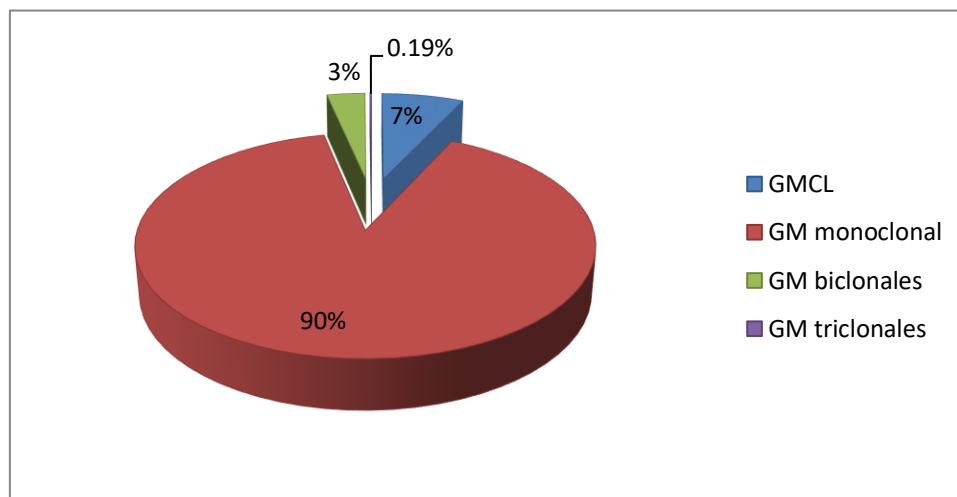


Figure 34 : Répartition des patients selon l'isotype

Concernant la distribution d'isotype des GM de notre série , on remarque la prédominance pour les GM monoclonale en principe par 89.66% , suivi de GM a chaines libres par 6.96% puis GM biclonales en fin triclonales comme cas rare pour notre série .

6-Répartition selon la chaînes légères des Ig

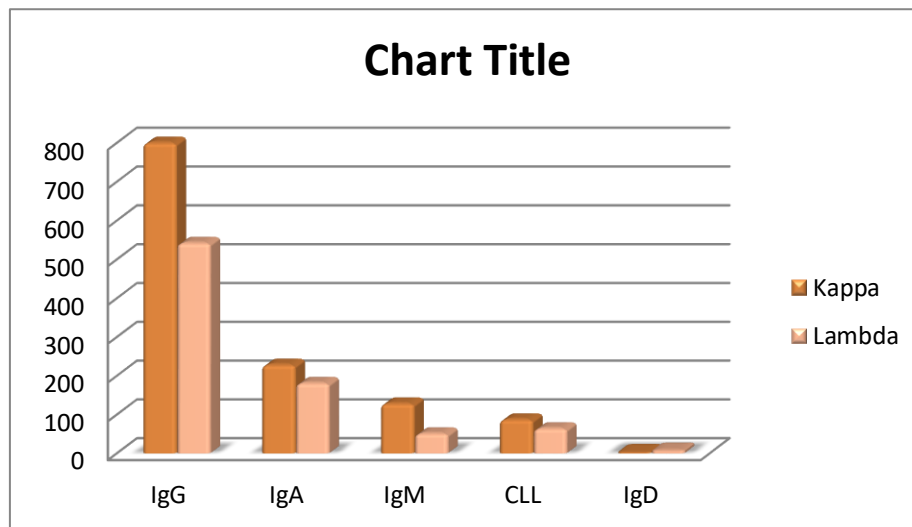


Figure 35 : Répartition des patients selon les résultats de l'immunotypage

Résultats après une étude sur 1943 cas atteints des gammopathies monoclonales on a trouvé: la répartition a été comme suit et par ordre de fréquence, IgG kappa, IgG Lambda , IgA Kappa, IgA Lambda , IgM Kappa , IgM Lambda ,CLL Kappa , CLL Lambda , IgD Lambda , IgD Kappa .

L'IgG était l'immunoglobuline monoclonale la plus dominante dans notre série, avec prédominance de l'IgG kappa (41.17% des cas).c'est le type qui représente plus de 75% des immunoglobulines du sérum humain normal **Gueye** (2001)

7-La répartition selon le diagnostic:

Dans le présent travail, 2490 cas de GM ont été étudiés dont 1663 MM, 573 MGUS,101 MW,36 LNH,31 LLC,4MIND et 1cas d'AMYLOSE.

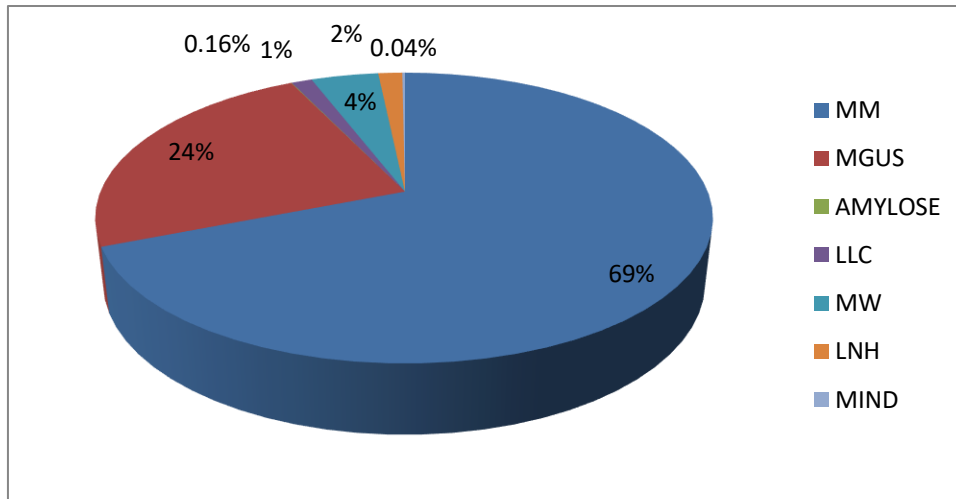


Figure 36 : la répartition du patient étudié atteint des gammopathies

Résultats :-dans notre étude le MM est le plus fréquente vient ensuite MGUS suivi MW.

2/-étude rétrospective pour MM

1-Caractéristiques immunochimiques

-Un pic à l'EPS a été noté chez 875 patients parmi 971 atteints de MM, 96 cas sans pic à l'EPS et l'EPU

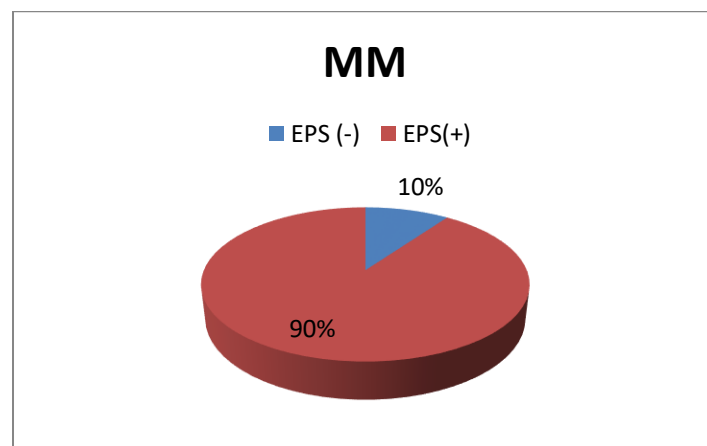


Figure37 : Répartition de la population étudiée selon la présence ou l'absence du pic

Résultats : - EPS positive dans 90% qui prouve la présence d'un pic monoclonale par rapport au 10% (Hypogammaglobunémie) à l'absence de pic qui besoin d'autre test qui prouve MM.

2-Répartition de la population étudiée selon résultat de IFXs:

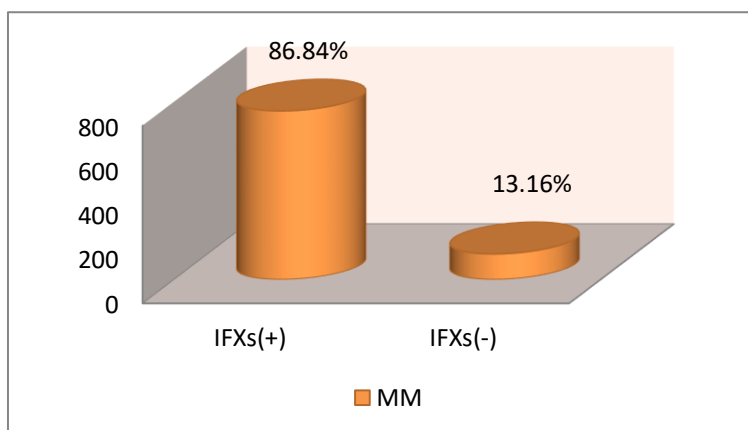


Figure 38 : Répartition selon le résultat de IFXs

Résultats : Nous remarquons une prédominance de sensibilité positive par 88.9 % pour confirmé les cas atteinte MM par rapport 11.1% résultat négative qui besoin d'autre test pour faire le diagnostic .

3 : Répartition de la population étudiée selon l'isotype

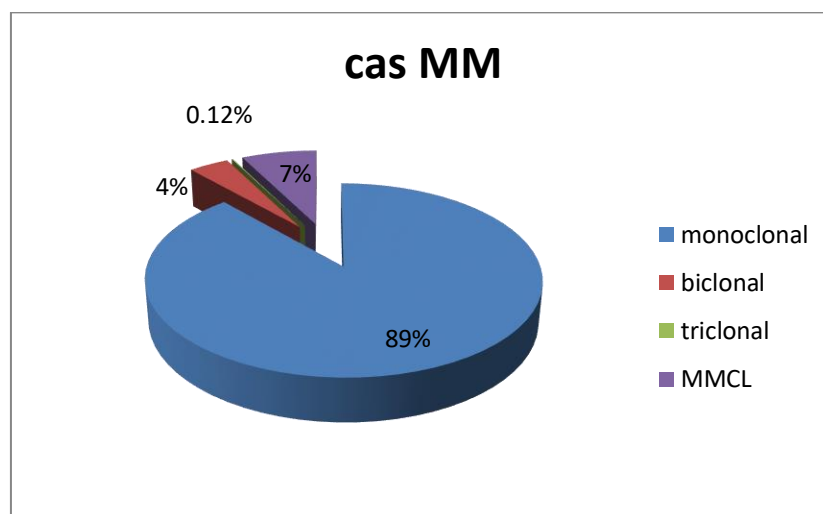


Figure 39 : Répartition selon l'isotype MM

Résultats : nous remarquons prédominance par 89 % pour MM suivi de MMCL suivi biclonaales et triclonaales

4: Répartition de 1392 cas de MMII selon le type de CL

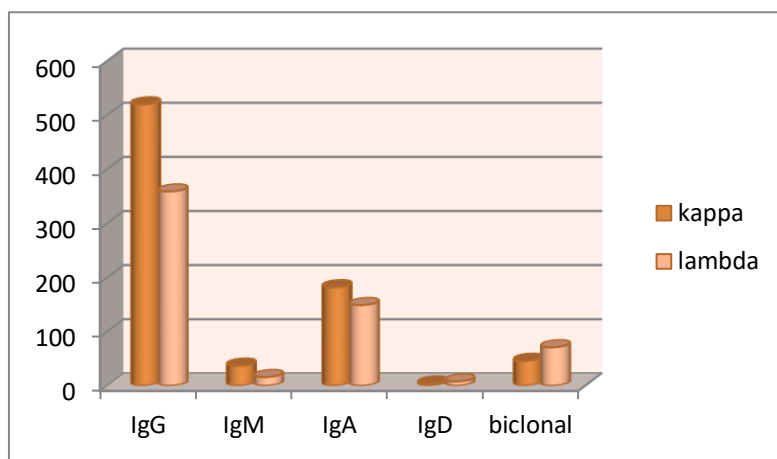


Figure 40 : Répartition selon le type de chaines légères

Nous remarquons que l'isotype des chaines légères kappa est la plus fréquente que l'isotype des chaines légères lambda

5: Répartition de 117 cas de MMCL selon le type de chaines légères

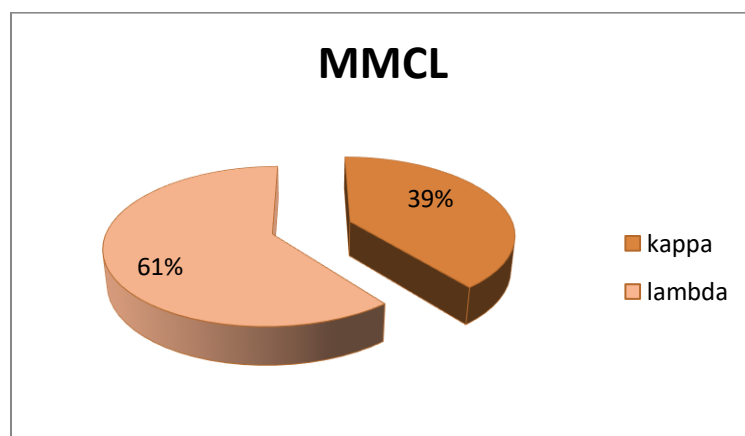


Figure 41 : Répartition selon le type de chaines légères

Nous remarquons que l'isotype des chaines légères lambda est la plus fréquente que l'isotype des chaines légères kappa dans MMCL.

6-Répartition de la population étudiée selon résultat de PBJ:

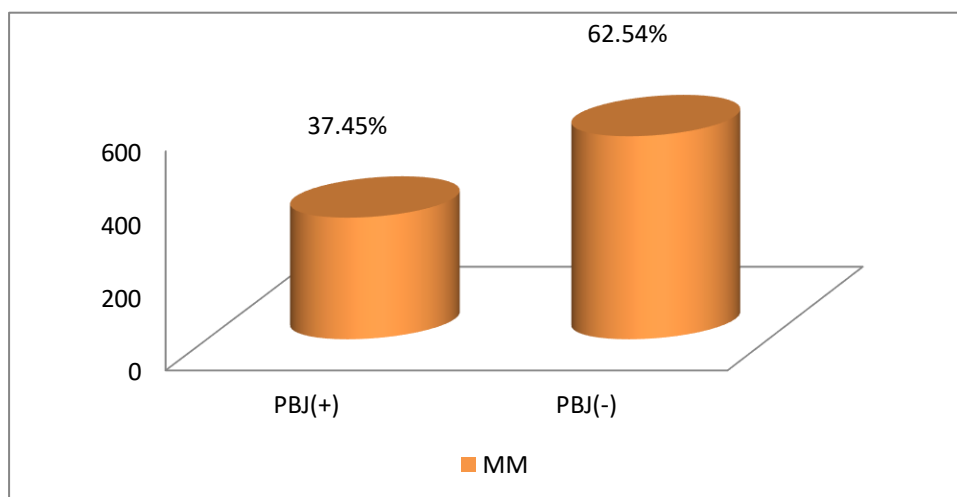


Figure 42 : Répartition selon le résultat de PBJ

Résultats : nous remarquons que 37.54 % des cas atteints déjà MM présentent une PBJ positif. Sa présence dans les urines contribue au diagnostic du MM (atteinte rénale), et le suivi de son taux permet de contrôler l'efficacité du traitement et l'évolution de la maladie.

6-Répartition de la population étudiée selon résultat de RFLC:

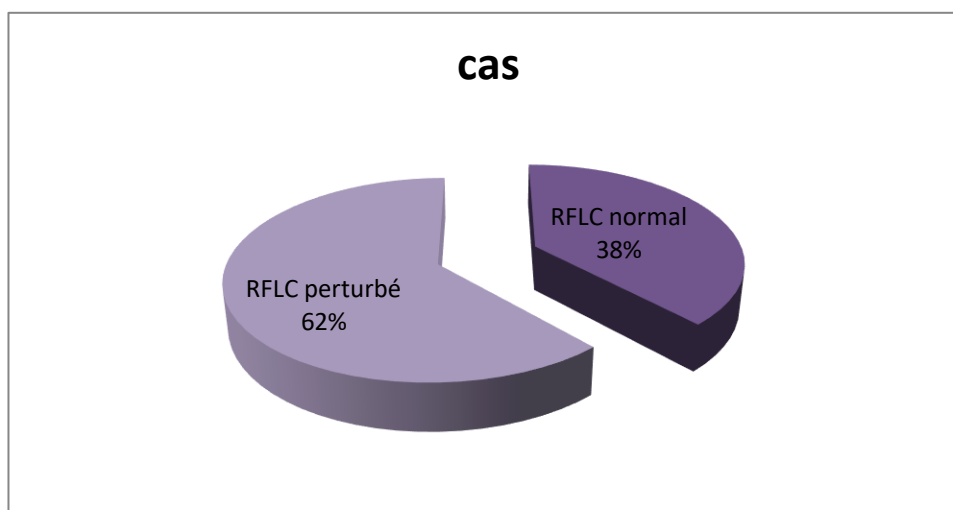


Figure 43 : Répartition selon le résultat de RFLC

Résultats : Nous remarquons que 62 % des test FLC sont perturbé (positif) pour le diagnostic de MM.

Parmi les 291 cas contenant une immunoglobuline monoclonale, une très grande majorité des cas mis en évidence par EPS, 62% avaient un rapport / déséquilibré (0,26 ou 1,65) ; le reste

(38%) ayant un rapport normal. Ces résultats sont proches à ceux décrits dans la littérature pour **Wicher (1999).**) [72]

Aussi on a trouvé 72% des cas avaient un RFLC supérieure 1.65, ce qui signifie que les chaînes légères kappa sont plus nombreuses par rapport aux chaînes légères lambda.

A/-

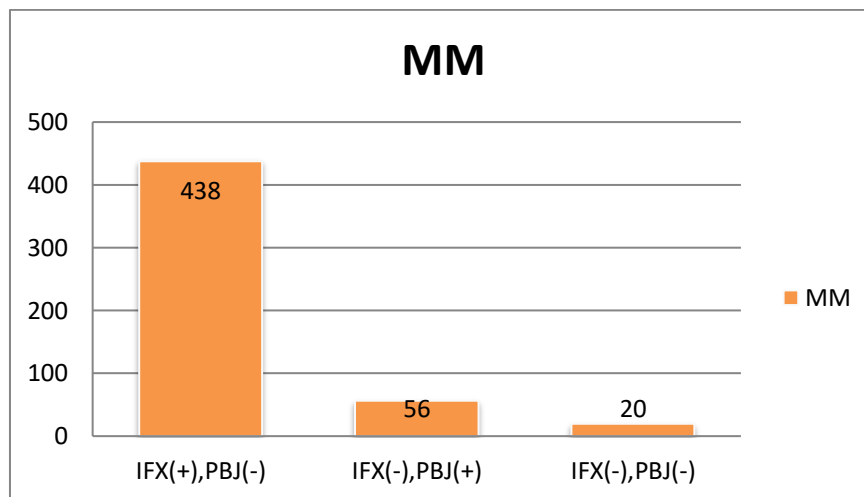


Figure 44 : Comparaison entre deux dosage IFX et PBJ

Résultats : nous remarquons une sensibilité pour IFX supérieure 85 % que PBJ pour faire un diagnostic MM.

B/-

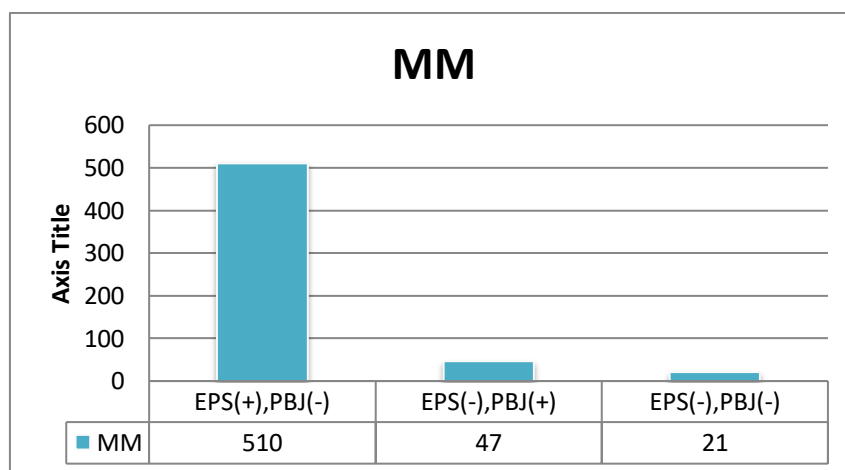


Figure 45 : Comparaison du dosage des EPS sériques par rapport PBJ.

Résultats : Nous remarquons un sensibilité de 88% pour EPS que PBJ pour donné un diagnostic de MM.

on a des cas lorsque EPS négative on complété par test PBJ pour faire le diagnostic 8.13%
 et le reste EPS(-)PBJ(-) présent 3.63% qui besoin 3ème test complémentaire pour le diagnostic.

Pour le diagnostic:

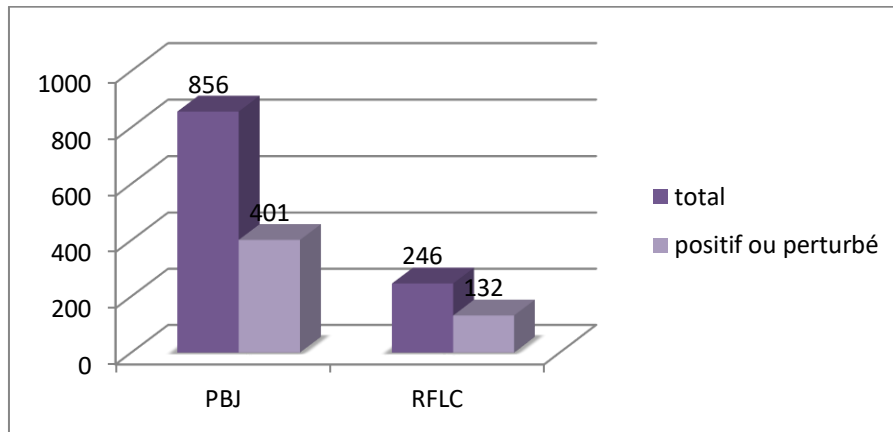


Figure 46 : Comparaison du dosage des CLL sériques par rapport aux PBJ

Résultats : Nos résultats s'accordent avec les données de la littérature. on a 37.45 % du totalité des test PBJ positif pour des cas diagnostiqué par MM.

-on a 60.53 % du totalité des RFLC perturbé (positif) pour des cas diagnostiqué pour MM

-Nous remarquons que le test RFLC plus sensible que test PBJ pour faire un diagnostic MM.

E/-Comparaison de résultat RFLC par rapport MMCL et MM.

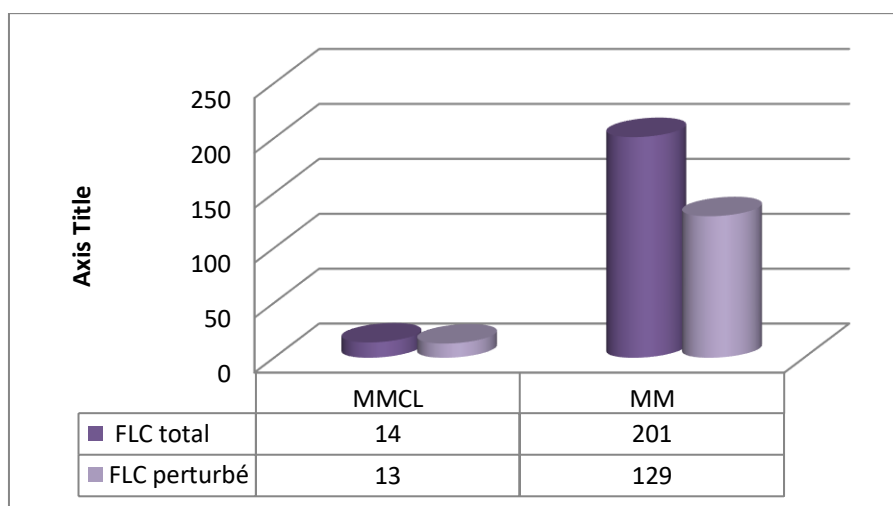


Figure 47 : Comparaison du dosage des CLL sériques par rapport deux type de MM

Résultat: on remarque que RFLC est toujours perturbé MMCL par rapport RFLC perturbée est 64.17% et le reste normal pour MM.

F/- Comparaison du dosage des CLL sériques par rapport aux autres test

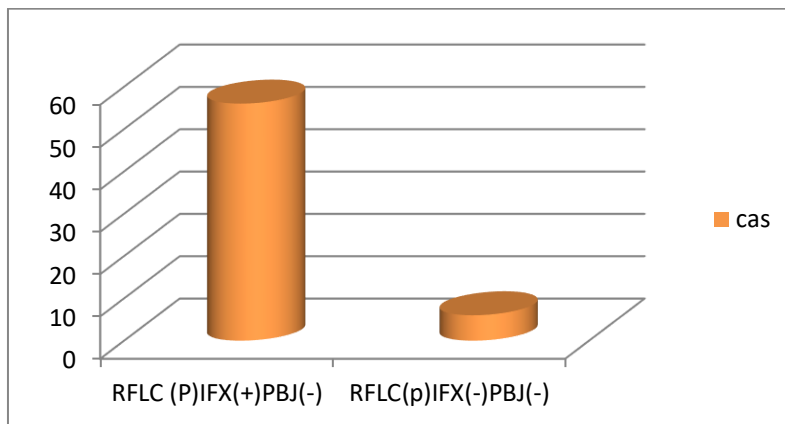


Figure 48 : Comparaison du dosage des CLL sériques par rapport aux autres test

G/- Intérêt du RFLC dans le suivi du MM

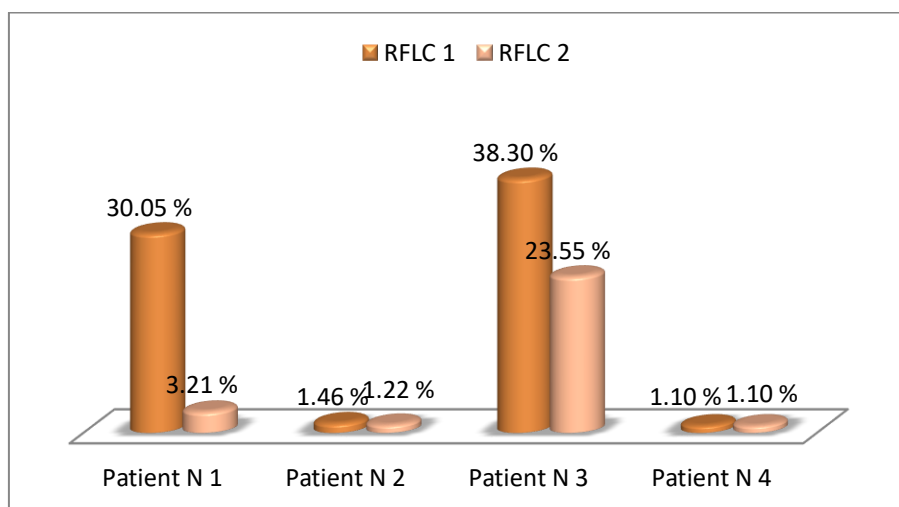


Figure 49 : Evolution de RFLC durant le traitement MM

Résultat: On a quatre patients nous remarquons le premier et le troisième diminution de rapport FLC après 6 mois de traitement le deuxième on remarque un légère diminution mais le quatrième ou vu que RFLC reste le même après 6 mois.

H/- Intérêt du PBJ dans le suivi du MM

Tableau 12 : Evolution de PBJ durant le MM

	pbj 1	pbj 2	pbj 3
Patient 1	P	N	N
Patient 2	N	N	P
Patient 3	P	N	/
Patient 4	N	N	N

Résultat: On a quatre patients nous remarquons que le premier et le troisième patients le résultats de PBJ changé dans le 2 ème bilan au contraire pour le deuxième patient changé au 3ème bilan et pour le dernière le bilan reste négative au cours de 3 bilans

Discussion:

- Sur le plan épidémiologique, Les GM sont des pathologies de la femme âgée, Sur le plan épidémiologique L'analyse de nos résultats montre une légère prédominance féminine avec un taux de 52%. Le sexe ratio homme/femme est de 0.92 ,nos études ont montré que le GM est plus fréquent chez les femmes que chez les hommes. Ces résultat se rapprochent de ceux rapporté dans d'autre études multicentriques . l'exemple de **P.AUCOUTURIER** (maladies immunoprolifératives-chapitre 12-page 394-édition 2008) montré une légère prédominance chez l'homme que les femme.

L'âge moyen de nos patients est égale à 68 ans(les femmes 66 ans et les hommes 69 ans) est en accord avec plusieurs séries de la littérature, elle est de 65 ans dans la majorité des études publiées par **Rajkumar (2013)** [69] aux Etats Unis. Ces résultats sont en accord avec les nôtres car celles-ci se trouvent dans la tranche d'âge médiane qui se situe entre (63-72).. l'âge moyen dans notre étude a été de 61.4 ans ,et que 6.8% des patients de moins de 40ans avaient un MM. le MM est un maladie liée à l'âge , cependant aux Etats-Unis et selon une étude réalisée entre 1995 et 2014 de Sung et al. dans une autre étude américaine ,l'incidence ajustée à l'âge du MM chez la population de plus de 20 a été de 5.4 pour 100000 habitants. [70]),Témoignant aussi que les GM sont des maladies du sujet âgé qui peut conduire au vieillissement de système immunitaire avec l'âge l'une des étiologie du GM.

- Sur le plan clinique, la prévalence des MGUS augmente avec l'âge ,3.2% chez les personnes de plus de 50 ans ,7.5% pour les personnes de plus de 75 ans*[71] .Alors que, la prévalence des MGUS dans notre cohorte est faible, suite au manque de technique de dépistage des gammopathies monoclonales et que nos malades ont été diagnostiqué aux stades tardifs

-notre population a été caractérisée par un pourcentage important de MM par rapport aux études internationales, ceci est du au retard des diagnostics, et à la non disponibilité des électrophorèses des protéines sériques dans la plupart des structures de santé. Selon la classification d'ISS, 47% de nos patients sont découverts au stade III contre 36% pour les stades II et 17% au stade primaire. Nous avons constaté que la majorité de nos malades sont à un stade déjà avancé ; ce pourcentage est proche des résultats d'un travail fait en 2017 au niveau du laboratoire d'immunologie **CHU HASSIBA BEN BOUALI** portants sur 110 patients atteints du MM, ce qui est en concordance avec les données de la littérature. Ceci est corrélé au retard de consultation et de diagnostic pour la majeure partie de nos patients.) [73]

-En effet, le pourcentage des MM au diagnostic a été 69% contre 12,1% seulement, dans l'étude française de Decaux et al. à Blois sur 1282 patients et au niveau de la Mayo Clinic entre 1960 et 2008; le pourcentage des patients avec MM est de 17.5% (n=6974), 14.6% de l'étude de Tamimi et al. sur 468 patients saoudiens. Mais les études de l'Afrique du nord, Marocaines, Tunisiennes et Algériennes avaient les mêmes résultats au moment du diagnostic.

-L'IgG était l'immunoglobuline monoclonale la plus dominante dans notre série chez 1342 patients, avec prédominance de l'IgG kappa (56% des cas).c'est le type qui représente plus de 75% des immunoglobulines du sérum humain normal **Gueye (2001)** *[72]

-Nos résultats montrés 117 cas MMCL et 53 cas MM à isotype IgM concordent avec les résultats françaises de **decaux et al.à Blois et Rennes** , et Américaine que le pourcentage des gammopathie avec des chaînes légères libres est supérieure au pourcentage des gammopathies associées à l'isotype de type IgM.

-Devant une clinique évocatrice MM et une EPS avec ou sans composant monoclonal (présence ou d'absence un pic monoclonale), pour EPS positif 90 % on trouve MM monoclonale, Biclonaire et triclonaire (tout MM qui présente un Ig entière), à EPS négative

10 %sont MMCL, MM non sécrétant dans notre cohorte étudiée. Ces résultats sont proches à ceux décrits dans la littérature 93.4% pour **Wicher (1999)** [73] .

- une immunofixation sérique a été réalisée chez ces patients couplée à Les MM ,Dans des cas MM à un stade très débutant avec un composant monoclonal sécrété à des concentration très faible non détecté à l'EPS, celui-ci peut ne pas être détecté aussi dans les urines. Des techniques très sensibles comme l'IFXs peuvent le détecter

-Les chaînes légères Lambda ont tendance à se polymériser après sécrétion ce qui donne souvent lieu à un composant décelable par EPU et IFX .

-Les 117cas de MMCL à EPS négative sont dans 39% des cas à chaîne légère Kappa. Une analyse des urines par électrophorèse des protéines urinaires et /ou IFX est obligatoire pour faire le diagnostic.

-Les isotypes qui ont été les plus associés à une insuffisance rénale ont été comme suit et par ordre de fréquence, les CLL de type lambda, les CLL de type Kappa et les IgG Kappa.

-Dans certains cas comme l'Amylose AL et syndrome de Randall peut survenir en dehors des complications d' un MM, nos résultats s'accordent avec les données de la littérature qui dit l'importante d'augmentation de concentration des CLL est corrélée avec le degré d'insuffisance rénale(**Hutchison and Landgren, 2011**). L'accumulation des CLL aggrave la maladie rénale (effet cytotoxique sur les tubules proximaux par augmentation du stress oxydant) (**Pote et al.,2000**)

Le composant monoclonal passe dans les urines et sa concentration dans le sérum diminue, l'analyse des urines à la recherche de PBJ s'avère très importante dans le diagnostic et de contrôle l'évaluation des maladies.

-Ce rapport en cas de MMCL les RFLC sont toujours perturbés. Cependant ces derniers présentent un rapport normal 35% (72 cas) dans des cas de MM.

- l'étude simultanée des protéines sériques et urinaire permet de poser le diagnostic des MM notamment les MMCL dans la majorité des cas, Le dosage des CLL sériques est nécessaire dans le diagnostic des malades avec MM à PBJ négatif et de myélome oligo- ou non sécrétant dans ces cas le diagnostic et le suivi par électrophorèse sérique s'avère difficile Ces IGMC ne donnant que rarement lieu à un pic à l'EPS bien visible et quantifiable (absence pic).

D'autre part, dans les cas MM avec atteinte rénale le composant passe dans les urines et sa concentration sérique diminue, ce qui peut rendre sa détection par EPS plus difficile. Dans ces cas, des technique plus sensible comme IFX et l'analyse des urines de 24 heures à la recherche de protéinurie de Bence Jones (PBJ), s'avère nécessaire au diagnostic et au suivi la toxicité viscérale de MM comme tubulopathie myélomateuse qui servaient presque exclusivement chez MMCL et l'Amylose AL aussi la maladie des dépôts non amyloïdes (syndrome de **Randall** est associé à un myélome dans 60 % des cas)sont due à l'accumulation d'une chaine légère chez MMCL par fois une MW [74] dans les deux cas le pronostic est très sévère et les solutions thérapeutiques presque inexistantes donc pour contrôlé l'efficacité des reins faut faire test PBJ selon des bilans programmé., il permet d'évaluer la réponse au traitement, dépister les rechutes.

Par ailleurs, l'exploration biologique des MM a récemment été enrichie par l'introduction en routine d'une technique automatisée (CLL ou FLC –free light schains-) d'immunoglobulines kappa et lambda, qui a montré une très grande sensibilité dans le diagnostic avec absence de pic monoclonal (dans 10-20% la mesure de la quantité du CM est difficile par les méthodes conventionnelle lorsque l'EPS,l'EPU, sIFX et uIFX sont négatives d'où l'intérêt de RFLC) pour la quantification quand le patient est atteint de MMCL, MMNS et l'Amylose AL -

le dosage des CLLs seul a peu d'intérêt pour le diagnostic de la majorité des GMSI . Il est cependant indispensable au diagnostic de GMSI à chaînes légères, représentant environ 20 % des cas de GMSI, où sa sensibilité est de 100 % et où la présence de CLLi peut être prise en défaut par l'EPS + IF seules. Les GMSI à chaînes légères ont un risque de progression maligne vers un myélome plus faible que les GMSI à Ig entière (0,3 % par an et 0,5–1 % par an respectivement) cela concorde avec les résultats des études de: **J.-P. Martellosio, X. Leleu, P. Roblot, et al.) [75] .**

✓ Pour un autre patient qui présente un MMCL d'isotype kappa, le RFLC ne s'est jamais normaliser ce qui explique la résistance aux traitements et l'absence de rémission qui en découle. Au cours du 4^{ème} dosage de RFLC il y a l'apparition de PBJ qui dépend de la fonction rénale, donc

le dosage des CLL sérique est une alternative à la mesure de la protéinurie des 24 heures pour le suivi du MM, par ailleurs le dosage des CLL sérique est plus performant que les dosages urinaires pour dépister l'existence d'une maladie résiduelle en cas de rémission complète car le taux de CLL sériques reflète la « charge » rénale en chaînes légères et représente un facteur prédictif d'atteinte rénale (**Guenet.L et al/ la revue de médecine interne 28(2007)689-697**). Cela nous renseigne sur l'importance du dosage des RFLC qui est perturbé 6 mois avant l'apparition de PBJ.

Les concentrations moyennes susceptibles de provoquer des lésions tubulaires ont été déterminées par Nowrousian et al. Elles sont de 113 mg/l pour les CLL kappa et de 278 mg/l pour les CLL lambda, ce qui correspond à 5-10 fois les valeurs normales.

Ces résultats se rapprochent de ceux rapportés dans d'autres études multicentriques. l'exemple de Guenet L et al qui ont découvert que dans environ 10% des cas, l'élévation des CLL précède les autres marqueurs.(**Guenet.L et al**).

-Dans le MW et L'Insuffisance rénale chronique il y a absence total d'indication de RFLC. Concernant le diagnostic des MM, RFLC n'apporte pas d'informations nouvelles, par ailleurs l'intérêt des RFLC dans ces derniers cas réside au niveau de la réponse favorable au traitement à cause de la courte durée de vie des CLL qui est de 2-6 heures.

Le dosage des RFLC ne remplace pas la mesure de quantité du CM dans le suivi du MM.

Le dosage des CLL est donc un test complémentaire de l'EPS et de l'IFX sérique au moment du diagnostic (**Guenet et al, 2007**). [76]

Conclusion :

Le MM n'est pas une affection rare dans l'établissement spécialisé dans la lutte contre le cancer. Comme dans la littérature rapportée, la maladie atteint surtout les sujets âgés. L'âge moyen dans notre série était de 68 ans mais avec prédominance féminine.

Il reste une maladie incurable, cependant un diagnostic précoce assorti d'une prise en charge adaptée permettra une meilleure qualité de vie des patients.

Le diagnostic du MM ne repose pas sur un seul paramètre, mais sur une stratégie raisonnée, utilisant les différents examens biologiques afin de mettre en évidence et d'identifier la nature du composant monoclonal.

Notre étude rétrospective prospective portée sur 1663 patients Algériens diagnostiqués MM, selon les critères de IMGW en 2014, au niveau du CHU de Blida, a révélé les caractéristiques régionales de notre population d'étude et qui sont en excellent accord avec les données décrites par de nombreuses séries de la littérature :

A la lumière de cette analyse, on peut conclure que le diagnostic des MM dépend essentiellement de la sensibilité des techniques de dépistage (EPS) et d'identification. L'analyse conjointe du sérum et des urines augmente la sensibilité du diagnostic des MM à EPS négative.

Dans 10-20% la mesure de la quantité du CM est difficile par les méthodes conventionnelle lorsque l'EPS, l'EPU, sIFX et uIFX sont négatives d'où l'intérêt de dosage des CLL (RFLC) pour la quantification quand le patient est atteint de MMCL, MMNS et l'Amylose AL.

le dosage des CLL sérique n'apporte pas d'informations nouvelles en ce qui concerne le diagnostic des MMII par ailleurs l'intérêt des RFLC dans ces cas réside au niveau de la réponse favorable au traitement à cause de la courte durée de vie des CLL qui est de 2-6 heures

La réalisation d'une PBJ n'est pas systématique chez les patients présentant un MM. Cependant celle-ci reste indispensable devant un doute diagnostique ou la forte suspicion d'une atteinte glomérulaire. Elle permet ainsi d'apprécier le type de lésion, les structures rénales impliquées et d'évaluer le pronostic.

Au cours des dernières années, la mise au point de RFLC ainsi que l'avènement de nouvelles molécules thérapeutiques ont permis une meilleure prise en charge des patients.

Des tests approfondies complémentaires comme RFLC et PBJ seraient en mesure d'enrichir davantage nos connaissances clinico-immunologique sur le diagnostic et le pronostic de cette maladie et nous étude à l'échelle régionale et nationale enrichirons l'information sur quelle type de MM utilisé.

*Références bibliographiques

- *[1] Bennaceur -Griscelli A, Bos Q J, Koscielny S et al. High level of glutathione-S-transferase pi expression in mantle cell lymphomas. *Clin Cances Res*, 2004, 10(9):3029-3034.
- *[2] Fernandez V, Hartmann E, Ott J et al. Pathogenesis of mantle-cell lymphoma: all oncogenic roads lead to dysregulation of cell cycle and DNA damage response pathways. *J Clin Oncol*, 2005, 23 (26) : 6364-6369.
- *[3] J. H. Wright, « A CASE OF MULTIPLE MYELOMA », *J Boston Soc Med Sci*, vol. 4, no 8, p. 195-204.5, avr. 1900.
- *[4] S. A. Padala *et al.*, « Epidemiology, Staging, and Management of Multiple Myeloma », *Med Sci (Basel)*, vol. 9, no 1, p. 3, janv. 2021, doi: 10.3390/medsci9010003.
- *[5] « Revue-SAHTS-10-11.pdf ». Consulté le: sept. 12, 2021. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.hematologie-dz.com/online/uploads/revue/Revue-SAHTS-10-11.pdf>
- *[6] L. Korngold et R. Lipari, « Multiple-myeloma proteins. III. The antigenic relationship of Bence Jones proteins to normal gammaglobulin and multiple-myeloma serum proteins », *Cancer*, vol. 9, no 2, p. 262-272, avr. 1956, doi: 10.1002/1097-0142(195603/04)9:2<262::aid-cnrcr2820090210>3.0.co;2-b.
- *[7] *Bull. Acad. Natle Méd.*, 2018, 202, nos 5-6, 923-934, séance du 22 mai 201
- *[8] (Wainsten., 2012, *Référentiel Onco-hématologie.*, 2014, Touaoussa ., 2015, Wainsten *et al.*, 2012) classée selon Mondiale de la Santé) en 2001 parmi les tumeurs à cellules B matures **(Constantin, 2018**
- *[9] C. M. Vachon *et al.*, « Increased risk of monoclonal gammopathy in first-degree relatives of patients with multiple myeloma or monoclonal gammopathy of undetermined significance », *Blood*, vol. 114, no 4, p. 785-790, juill. 2009, doi: 10.1182/blood-2008-12-192575.
- *[10] S.-H. Chang *et al.*, « Obesity and the Transformation of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance to Multiple Myeloma: A Population-Based Cohort Study », *J Natl Cancer Inst*, vol. 109, no 5, mai 2017, doi: 10.1093/jnci/djw264.
- *[11] G. Taino, C. Buonocore, A. Stanga, et M. Imbriani, « [Monoclonal gammopathy of uncertain significance (MGUS) and ionizing radiation] », *G Ital Med Lav Ergon*, vol. 42, no 4, p. 292-297, déc. 2020.
- *[12] K. Neriishi, E. Nakashima, et G. Suzuki, « Monoclonal gammopathy of undetermined significance in atomic bomb survivors: incidence and transformation to multiple myeloma », *Br J Haematol*, vol. 121, no 3, p. 405-410, mai 2003, doi: 10.1046/j.1365-2141.2003.04287.x
- *[13] O. Landgren *et al.*, « Pesticide exposure and risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance in the Agricultural Health Study », *Blood*, vol. 113, no 25, p. 6386-6391, juin 2009, doi: 10.1182/blood-2009-02-203471.
- *[14] A. J. De Roos *et al.*, « Pooled study of occupational exposure to aromatic hydrocarbon solvents and risk of multiple myeloma », *Occup Environ Med*, vol. 75, no 11, p. 798-806, nov. 2018, doi: 10.1136/oemed-2018-105154.

*[15] A. Bosseboeuf *et al.*, « Monoclonal IgG in MGUS and multiple myeloma targets infectious pathogens », *JCI Insight*, vol. 2, no 19, p. 95367, oct. 2017, doi: 10.1172/jci.insight.95367.

*[16] 4. Nair, S. et al ; Clonal Immunoglobulin against Lysolipids in the Origin of Myeloma; *New England Journal of Medicine*; 11 février 2016.

*[17] *Naim U. Rashid, Adam S. Sperling, Niccolo Bolli, David C. Wedge, Peter Van Loo, Yu-Tzu Tai, Masood A. Shammas, Mariaterea Fulciniti, Mehmet K. Samur, Paul G. Richardson, Florence Magrangeas, Stephane Minvielle, P. Andrew Futral C. Anderson, Herve Avet-Loiseau, Peter J. Campbell, Giovanni Parmigiani2 and Nikhil C. Munshi. differential and limited expression of mutant alleles in multiple myeloma , Blood, 2014*

*[18] Source : Kumar S et al, *Lancet Oncol.* 2016 Aug; 17(8): e328-e346*

*[19] .© 2012 Éditions françaises de radiologie. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés

*[20] (*La Société Française d'Hématologie., 2009*) Et par conséquence les modifications de l'hémogramme

*[21] M. A. Gertz et S. V. Rajkumar, Éd., *Multiple Myeloma*. New York, NY: Springer New York, 2014. doi: 10.1007/978-1-4614-8520-9.

*[22] M. Gressier, M. Chaquin, L. Lhermitte, V. Asnafi, E. Macintyre, et C. Brouzes, « [Utility of 8-colours multiparameter flow cytometry immunophenotyping of plasma cells for the management of monoclonal gammopathy] », *Ann Biol Clin (Paris)*, vol. 71, no 3, p. 313-323, juin 2013, doi: 10.1684/abc.2013.0813.

*[23] P. R. Greipp *et al.*, « International staging system for multiple myeloma », *J Clin Oncol*, vol. 23, no 15, p. 3412-3420, mai 2005, doi: 10.1200/JCO.2005.04.242.

*[24] S. V. Rajkumar *et al.*, « International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma », *Lancet Oncol*, vol. 15, no 12, p. e538-548, nov. 2014, doi: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5

*[25] Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos M-V, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014;15:e538-48.

*[26] POUR EN SAVOIR PLUS, CONSULTEZ : WWW.DONDEMOELLEOSSEUSE.FR

1. Chiffres de l'Agence de Biomédecine

*[27] (voir « Les traitements du myélome », page 20).

*[28]-KYLE RA, RAKJUMAR SV, "Monoclonal gammopathies of undetermined significance",

Hematol Oncol Clin North Am, 1999; 13 : 1181-202.

*[29]- ZANDECKI M, GENEVIEVE F, JEGO P, GROSBOIS B, "Les gammopathies monoclonales de signification indéterminée" *Rev Méd Interne* 2000; 21 : 1060-74.

*[30]. (*Journal biomnis* 2016)

*[31] Exploration des chaînes légères libres des immunoglobulines: comparaison de deux méthodes de dosage.

LA FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES ET PARAMÉDICALES DE MARSEILLE Le 17 Décembre 20

- *[32] I. Jahn, G. Diez, et J. Goetz, « Apport de l'électrophorèse capillaire et du dosage des chaînes légères libres dans l'exploration des immunoglobulines : le point de vue de l'immunologiste », *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, vol. 23, no 4, p. 231-239, août 2008, doi: 10.1016/j.immbio.2008.07.003
- *[33] Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, Showell PJ, Drayson MT, et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free lightchains in serum and urine. *Clin Chem* 2001;47:673–80.
- *[34] te Velthuis H, Knop I, Stam P, van den Broek M, Bos HK, Hol S, et al. N Latex FLC- new monoclonal high-performance assays for the determination of free lightchain kappa and lambda. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:1323–32.
- *[35] Tate J, Bazeley S, Sykes S, Mollee P. Quantitative serum free light chain assay -analytical issues. *Clin Biochem Rev* 2009;30:131–40.
- *[36] Lock RJ, Saleem R, Roberts EG, Wallage MJ, Pesce TJ, Rowbottom A, et al. A multicentre study comparing two methods for serum free light chain analysis. *Ann Clin Biochem* 2013;50:255–61.
- *[37] Palladini G, Jaccard A, Milani P, Lavergne D, Foli A, Bender S, et al. Circulating free light chain measurement in the diagnosis, prognostic assessment and evaluation of response of AL amyloidosis: comparison of Freelite and N latex FLC assays. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1734–43.
- *[38] Kubicki T, Dytfeld D, Baszczuk A, Wysocka E, Komarnicki M, Lewandowski K. Clinical usefulness of serum free light chains measurement in patients with multiple myeloma: comparative analysis of two different tests. *Postepy HigMed Dosw (Online)* 2017;71:40–6.
- *[39] Campbell JP, Heaney JLJ, Shemar M, Baldwin D, Griffin AE, Oldridge E, et al. Development of a rapid and quantitative lateral flow assay for the simultaneous measurement of serum κ and λ immunoglobulin free light chains (FLC): inception of a new near-patient FLC screening tool. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:424–34.
- *[40] Heaney JLJ, Campbell JP, Griffin AE, Birtwistle J, Shemar M, Child JA, et al. Diagnosis and monitoring for light chain only and oligosecretory myeloma using serum free light chain tests. *Br J Haematol* 2017;178:220–30.
- *[41] Heaney JLJ, Campbell JP, Yadav P, Griffin AE, Shemar M, Pinney JH, et al. Multiple myeloma can be accurately diagnosed in acute kidney injury patients using a rapid serum free light chain test. *BMC Nephrol* 2017:18.
- *[42] Te Velthuis H, Drayson M, Campbell JP. Measurement of free light chains with assays based on monoclonal antibodies. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1005–14.
- *[44] Dejoie T, Corre J, Caillon H, Hulin C, Perrot A, Caillot D, et al. Serum free light chains, not urine specimens, should be used to evaluate response in light-chain multiple myeloma. *Blood* 2016;128:2941–8.
- *[45]: J.-P. Martellosio, X. Leleu, P. Roblot, et al.. Dosage des chaînes légères libres : indications et méthodes. *Rev Med Interne* (2019), Pour citer cet article <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2019.01.005> point Dosage des

chaînes légères libres : indications et méthodes Free light chains assay: Indications and methods J.-P. Martellosio, X. Leleub, c, P. Roblota, d, M. Martina, d, M. Puyadea, * , ca Service de médecine interne, maladies infectieuses et tropicales, centre hospitalier universitaire de Poitiers, 2, rue de la Milétrie, 86021 Poitiers cedex, France b Service d'onco-hématologie et thérapie cellulaire, CHU de Poitiers, 2, rue de la Milétrie, Poitiers cedex, France c CIC 1402, CHU de Poitiers, 2, rue de la Milétrie, Poitiers cedex, France d Université de Poitiers de médecine pharmacie, 6, rue de la Milétrie, TSA 51115, 86073 Poitiers cedex 9, France

20 Par Monsieur Anthony-Charles NZEPA

*[46] Rajkumar SV, Harousseau J-L, Durie B, Anderson KC, Dimopoulos M, Kyle R, et al. Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood* 2011;117:4691–5.

*[47] Corso A, Mangiacavalli S. Non-secretory myeloma: ready for a new definition? *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2017;9:e2017053.

*[48] Drayson M, Tang LX, Drew R, Mead GP, Carr-Smith H, Bradwell AR. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* 2001;97:2900–2.

*[49] Kyle RA, Durie BGM, Rajkumar SV, Landgren O, Blade J, Merlini G, et al. Mono-clonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia* 2010;24:1121–7.

*[50] Dispenzieri A, Kyle RA, Katzmann JA, Therneau TM, Larson D, Benson J, et al. Immunoglobulin free light chain ratio is an independent risk factor for progression of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *Blood* 2008;111:785–9.

*[51] Dispenzieri A, Zhang L, Katzmann JA, Snyder M, Blood E, Degoey R, et al. Appraisal of immunoglobulin free light chain as a marker of response. *Blood* 2008;111:4908–15.

*[52] Ayliffe MJ, Davies FE, de Castro D, Morgan GJ. Demonstration of changes in plasma cell subsets in multiple myeloma. *Haematologica* 2007;92:1135–8.

*[53] Milani P, Palladini G, Merlini G. Serum-free light-chain analysis in diagnosis and management of multiple myeloma and related conditions. *Scand J Clin Lab Invest* 2016;(Suppl 245):S113–8.

*[54] Dejoie T, Attal M, Moreau P, Harousseau J-L, Avet-Loiseau H. Comparison of serum free light chain and urine electrophoresis for the detection of the light chain component of monoclonal immunoglobulins in light chain and intact immunoglobulin multiple myeloma. *Haematologica* 2016;101:356–62.

*[55] Durie BGM, Harousseau J-L, Miguel JS, Bladé J, Barlogie B, Anderson K, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006;20:1467–73.

- *[56] Abbi KKS, Silverman M, Farooq U, Tricot A, Dozeman L, Nadiminti K, et al. Potential pitfalls of serum free light chain analysis to assess treatment response for multiple myeloma. *Br J Haematol* 2016;174:536–40.
- *[57] Go RS, Rajkumar SV. How I manage monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 2018;131:163–73.
- *[58] Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM, Melton LJ, Bradwell AR, Clark RJ, et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 2005;106:812–7.
- *[59] Turesson I, Kovalchik SA, Pfeiffer RM, Kristinsson SY, Goldin LR, Drayson MT, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and risk of lymphoid and myeloid malignancies: 728 cases followed up to 30 years in Sweden. *Blood* 2014;123:338–45
- *[60] Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, Miguel JS, Ludwig H, Hajek R, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009;23:215–24
- *[61] Van de Donk NWCJ, Palumbo A, Johnsen HE, Engelhardt M, Gay F, Gregersen H, et al. The clinical relevance and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance and related disorders: recommendations from the European Myeloma Network. *Haematologica* 2014;99:984–96
- *[62] Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, Kumar S, Wechalekar A, Hawkins PN, et al. New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes. *J Clin Oncol* 2012;30:4541–9.
- *[63] Sayed RH, Wechalekar AD, Gilbertson JA, Bass P, Mahmood S, Sachchithanantham S, et al. Natural history and outcome of light chain deposition disease. *Blood* 2015;126:2805–10.
- *[64] Dimopoulos MA, Sonneveld P, Leung N, Merlini G, Ludwig H, Kastritis E, et al. International Myeloma Working Group Recommendations for the diagnosis and management of myeloma-related renal impairment. *J Clin Oncol* 2016;34:1544–57
- *[65] Leleu X, Xie W, Bagshaw M, Banwait R, Leduc R, Roper N, et al. The role of serum immunoglobulin free light chain in response and progression in Waldenström macroglobulinemia. *Clin Cancer Res* 2011;17:3013–8.
- *[66] Dispenzieri A. POEMS syndrome: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2017;92:814–2
- *[67] Heaton C, Vyas SG, Singh G. Audit of use and overuse of serum protein immunofixation electrophoresis and serum free light chain assay in tertiary healthcare: a case for algorithmic testing to optimize laboratory utilization. *Am J Clin Pathol* 2016;145:531–7.

*[68]: Sebia le premier fournisseur mondial d'équipements et de réactifs d'électrophorèse protéique clinique pour le dépistage et la surveillance de diverses maladies. sud de Paris (Lisses, France))

*[69]- Rajkumar SV. (2013). Dyscrasies plasmocytaires. In: Goldman L., Schafer AI. Cecil

*[70]- Kolopp, Sarda ; Marie, Nathalie. (2009). Les immunoglobulines et leurs fonctions. Laboratoire d'Immunologie Centre de Biologie Lyon Sud : s.n., octobre 2009.

*[71]The pan African Medical Journal .Mateos MV.How to maintain patients on lonf-term therapy: understanding the profile and Kinetics of adverse events. leuk Res.2012 Nov;36(Suppl 1):S35--43.(pub med)

*[72]- Gueye N. (2001). Myélome multiple aspects cliniques et évolutifs (A propos de 22 observations colligées à la Clinique Médicale-CHU Aristide Le Dantec).Thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine, Université Cheikh Anta Diop de DAKAR, Faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie, p101.

*[73]- WICHER JT , PRICE CP, SPENCER K (1999). Manual of clinical laboratory immunology,1225P.

*[74]Gronbaek K,Staten PT , Ralfkiaer E et al. Somatic Fas muta-tion in non-hodgkin's lymphma: association with extranodal disease and autoimmunity. Blood, 1998,92(9) : 3018-3024

*[75]: Dosage des chaînes légères libres : indications et méthodes. Rev Med Interne (2019), <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2019.01.005>

*[76]Elligton TD, Henley SJ,Wilson RJ,Wu M,Richardson LC. Trends in Solitary Plasmacytoma, extramedullary plasmacytoma, and myeloma mortality by racial-ethnic group, United States 2003-2016.Cancer Med .2021 Jan;10(1):386-395

Annexe 1:

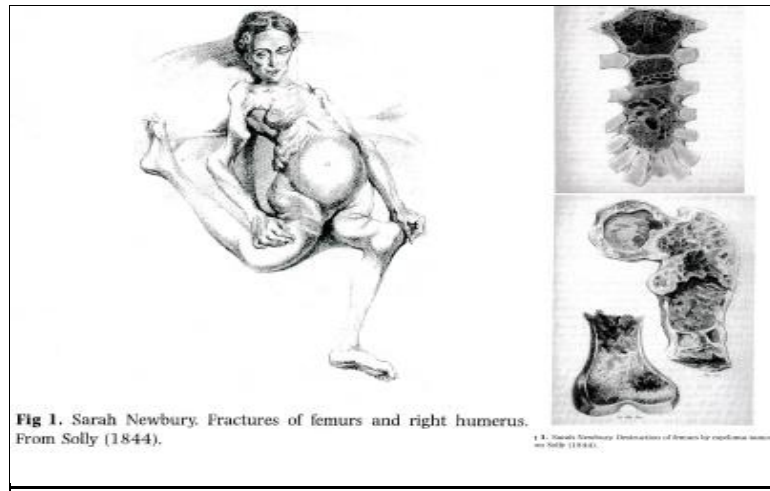


Figure 01: Premier cas de MM rapporté en 1844

Tableau 1: Les principales manifestations cliniques du myélome (Manier et Leleu, 2001)

Atteintes	Signes cliniques	Causes
Atteintes Osseuses	-Douleurs intenses -Lésions de l'os environnant la cavité médullaire -Fractures pathologiques	-Résorption ostéoclastique et inhibition de la fonction reconstructrice des ostéoblastes
Atteintes immunitaire	-Sensibilité accrue aux Infections	-Immunodépression et inhibition de l'immunité
Atteinte rénale	-Insuffisance rénale	-Déshydratation extracellulaire à cause de l'hypercalcémie -Précipitation des CLL
Atteinte Médullaire	-Anémie -Thrombopénie	-Cytopénie due à l'infiltration Plasmocytaire médullaire

Tableau 2: Examens biologiques au cours du diagnostic selon les recommandations de l'International Myeloma Workshop Consensus Panel (Kyle et Rajkumar, 2009)

• Hémogramme avec frottis sanguin
• Examen biochimique complet sanguin et urinaire comprenant ionogramme Sanguin, créatininémie, calciémie, albuminémie
• Electrophorèse des protéines sérique + immunofixation
• Dosage pondérale des immunoglobulines sériques
• Protéinurie avec recherche d'une protéinurie de Bence-Jones + électrophorèse et immunofixation sur les urines des 24 heures
• Myélogramme et /ou biopsie ostéomédullaire
• Analyse cytogénétique (caryotype standard et FISH)
• Dosage des LDH et de la B-2 microglobuline dans le sérum
• Dosage des chaînes légères sériques
• Bilan radiologique du squelette (rachis, crâne, pelvis, humérus, fémurs + IRM selon les circonstances)

FISH : hybridation in situ en fluorescence

Tableau 3: Classification de Salmon et Durie (1975)

Stades	Masse tumorale x	Survie
Stade I (Tous les critères suivants)	-Hb > 10 g/100ml -Ca < 100mg -Radio normal -IgG plasma < 50 g/l ou IgA < 30g/l -PBJ < 4g/24h	< 60 mois
Stade II (Tout autre situation)	Ni I, ni III	41 mois
Stade III (Un seul des critères suivants)	-Hb < 8.5g/100 ml -Ca > 120 mg -Radiolyse multiple -IgG > 70 mg/l ou IgA (50 g/l -PBJ > 12g/24h	23 mois

Tableau 4: Critère du diagnostic différentiel

Critère du diagnostic du MM	Critère du diagnostic du MGUS	Critère du diagnostic du plasmocytome solitaire	Critère du diagnostic de l'amylose
<p>-Hypercalcémie (≥ 115mg/L ou $\geq 2,65$mmo/L)</p> <p>-Créatininémie($>173\mu\text{mol/L}$ ou >20 mg/L)</p> <p>-Taux d'hémoglobine <10g/L ou plus de 2 g/dl en dessous de la limite, inférieur de la normale)</p> <p>-Lésions osseuses (ou moine une lésion lytique, ostéopénie sévère ou fracture pathologique)</p>	<p>-Taux du composant monoclonal<30g/l (quelque soit le Type d'Ig)</p> <p>-Calcémie, Créatinémie et hémoglobine normales</p> <p>-Protéïnurie deBence Jones (PBJ) <1g/24h.</p> <p>-Plasmocytose médullaire $<10\%$.</p> <p>-Absence de lésions osseuses.</p>	<p>-Lésion osseuses unique due à l'infiltration des plasmocytes clonaux.</p> <p>-Absence de critère de CRAB.</p> <p>-Absence ou faible taux du composant monoclonal dans le sérum et absence de l'hypogammaglobunimie.</p>	<p>-Confirmation du diagnostic par étude histologique de l'organe atteint.</p> <p>-Présence d'un composant monoclonal dans les urines</p>

Tableau 5: Définition des stades de l'International Staging System (ISS) et impact sur la survie (D'après Bataille R et al, 1984)

Stades	Définitions	Survie médiane
I	-B2-microglobuline < 3,5 mg/L -Albumine > 35 g/L	62 mois
II	Ni stade I, ni stade III	44 mois
III	B2-microglobuline > 5,5 mg/L	29 mois

Annexe 2:

Tableau 6: Proposition de recommandation de l'IMWG d'usage du dosage des CLL (Choquet et Musset, 2006)

Maladies		Recommandé	A discuter	Inutile
Systématique				✓
Myélome à Ig complète	Diagnostic			✓
	Suivi thérapeutique		✓	
	Suivi rechute			✓
MGUS			✓	
Plasmocytome			✓	
Amylose AL	Diagnostic	✓		
	Suivi	✓		
Myélome à CLL	Diagnostic	✓		
	Suivi	✓		
Myélome non Sécrétant	Diagnostic	✓		
	Suivi	✓		

Tableau 7: Les valeurs usuelles des chaînes légères libres (Katzmann et al. 2004; Hutchison et al. 2008)

Paramètres	CLL k Mg/l	CLL λ Mg/l	Ratio k/ λ
Normes	3,3 - 19,4	5,7 - 26-3	0,26 - 1,65
			3,3 - 3,1 Si insuffisance rénale

Annexe 3:

Liste des patients avec les quels le diagnostic a été posé par RFLC :

1)- Mr. B.B, Age : 71 ans, Isotype : Chaines légères kappa (N°: 947/10)

Date	mg/L				PBJ
	Lf=CLL	Kf=CLL	Rapports k/λ	Concentration du CM g/l	
28/02/2010	7.46	63.2	8.47	0	0
07/04/2011	6.61	84.9	12.8	0	/
04/03/2012	4.80	41.5	8.65	0	/
01/10/2013	82.08	10.73	7.65	0	/
17/11/2014	11.15	1188.35	106.58	0	+

2)- Mr.S.A , Age: 48 ans , Isotype : Chaines légères kappa (N°: 16/11)

Date	mg/L				PBJ
	Lf=CLL	Kf=CLL	Rapports k/λ	Concentration du CM g/l	
23/01/2011	1.76	1.99	1.13	0	/
31/01/2011	3.78	599	158.46	0	/
09/02/2011	5.16	341	66.08	0	/
21/06/2011	4.96	14.7	2.96	0	/
12/08/2011	0.504	78.6	156	0	0
15/01/2013	8.84	15.8	1.79	0	/
20/07/2014	11.83	393.22	33.24	0	/