

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB DE BLIDA
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



MEMOIRE DE MASTER 2

En Biologie

Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Atteinte rénale au cours du myélome multiple

Chef d'option : Dr SAADI L.

Par

Mlle. **MEHTOUK** Merieme

Mlle. **ELAHCENE** Imen

Devant le jury composé de :

Mme. ABDUL HUSSEIN A.	MCB	USDB1	Présidente
Mme. BENAZOUZ F.	MAA	USDB1	Examinatrice
Mr. BELOUNI R.	MAA	CHU Beni Messous	Promoteur
Mme. AISSANI-ELFERTAS	MCB	USDB1	Co-promotrice

Promotion 2017, 2018.

REMERCIEMENTS

A cœur vaillant rien d'impossible, à conscience tranquille tout est accessible, quand il y a la soif d'apprendre, tout vient à point à qui sait attendre, quand il y a le souci de réaliser un dessein, tout devient facile pour arriver à nos fins malgré les obstacles qui s'opposent. En dépit des difficultés qui s'interposent, les études sont avant tout notre unique et seul atout, ils représentent la lumière de notre existence, l'étoile brillante de notre réjouissance comme un vol de gerfauts hors du charnier natal. Nous partons d'un rêve héroïque et brutal espérant des lendemains épiques un avenir glorieux et magique, souhaitant que le fruit de nos efforts fournis jour et nuit, nous mène à vers le bonheur fleuri. Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys, nous prions Dieu que cette soutenance fera signe de persévérance et que nous serions enchantés par notre travail honore, nous dédie cette mémoire à :

A Allah tout puissant qui nous a inspiré qui nous guide dans le bon chemin, nous vous devons ce que nous sommes devenues. Louanges et remerciements pour votre clémence et miséricorde.

Au terme de ce travail nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et remerciement à nos deux promoteurs et guides Dr. BELOUNI Rafik et Mme AISSANI RADIA, qui ont été d'un grand apport pour la réalisation de ce présent travail de par leurs conseils et orientations, ainsi que leur soutien scientifique.

Nos vifs remerciements vont aussi à :

- Mme ABDUL HUSSEIN. A pour avoir bien voulu présider le jury.
- Mme BENAZOUZ. F pour avoir accepté de juger ce travail.

A tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à la réalisation de ce projet, parmi ceux-ci :

Pr. DJIDJIK d'avoir bien voulu nous accepté au sein de son service d'immunologie, ainsi, que son personnel pour toutes les réponses qu'ils nous ont apportés. Nos enseignants pour leur implication dans notre apprentissage. Nos camarades, pour tous les bons moments partagés au sein de l'USDB.

Pour finir nous adressons un grand merci et exprimons toute notre gratitude et reconnaissance à nos familles respectives, pour leur patience et le soutien moral qu'ils nous ont apporté tout au long de notre cursus.



Dédicaces

A Ma très chère mère Atra DRISSI, à mon adorable mère, à celle qui est toujours présente et continue de l'être pour faire mon bonheur. Merci pour t'être sacrifiée pour que tes enfants grandissent et prospèrent. Merci de trimer sans relâche, malgré les péripéties de la santé et de la vie, au bien-être de tes enfants. Merci tout simplement d'être ma mère Allah, j'ai reçu de vous bien plus que le bonheur Vous m'avez donné tout en me donnant ma Mère. Il est à vous ce travail, ainsi que tout mon cœur, il est à vous, ma Mère ! Puisse Allah le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes frères et mes soeurs, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Une dédicace toute particulière à mon futur compagnon Ryad, pour son amour, son soutien et ses conseils.

A Tous Mes enseignants tout au long de mes études. A tous ceux que j'aime. A toute ma promotion A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail. A tous ceux qui ont cette pénible tâche de soulager les gens et diminuer leurs souffrances.

MERIEME.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A mes parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent

De me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A mes frères et à mes adorables sœurs qui ont toujours été présents pour moi.

A toute ma famille, et mes amis, a mon binôme Meriem.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible.

Imen.

Les gammopathies monoclonale a signification rénale l'un des hémopathies maligne, caractérisés par une infiltration plasmocytaire au niveau de la moelle osseuse avec une infiltration des immunoglobulines au niveau des glomérules.

Nous avons réalisé une étude rétrospective et prospective concernant les aspects cliniques, biologiques et immunochimiques des myélomes multiples avec atteinte rénale. De janvier 2016 à mai 2018, 621 cas de gammopathies monoclonales ont été recensés au CHU de Beni Messous, dont 39 cas de Myélome Multiple avec atteinte rénale. Dans notre série, la tranche d'âge majoritaire était entre 70 et 80 ans avec un âge moyen de $64,49 \pm 11,42$ ans et un sexe Ratio (H/F) de 1.16. Nos résultats révèlent que 61,53% des patients présentaient d'autres pathologies telles que le syndrome néphrotique ou anémique. Les caractéristiques biologiques ont révélé, d'une part, des taux élevés de la β_2m chez 94,59% des patients, et d'autre part, une hypo albuminémie chez 87,18% des patients objets de notre étude. Les symptômes révélateurs dominants étaient l'insuffisance rénale (82,05%) ainsi que l'anémie suivie des douleurs osseuses et une hypercalcémie. Nous avons constaté un pic à l'électrophorèse dans la zone β chez les 38 patients (30,76 % des cas) et dans la zone γ chez 64,10% des cas. L'isotype IgG caractérisait plus de la moitié des myélomes multiples avec atteinte rénale de notre série (56,84%). L'isotype IgA ne concernait que 20,55% des cas. Nous avons mis en évidence l'existence d'une association entre les taux sériques et urinaires des marqueurs «albumine » et « Protéines de Bence Jones» respectivement. En effet, pas de corrélation entre les taux sérique des deux marqueurs pronostic l'albumine et ceux de la β_2m . Des taux élevés de β_2m ont été associés au syndrome anémique, douleur osseuse et à l'hypercalcémie. La caractérisation des paramètres biologiques (taux sériques de β_2m et l'albumine) nous a permis d'établir une classification ISS, stadifiant ainsi la majorité des cas au stade ISS III.

L'atteinte rénale au cours du MM est en général observée chez un sujet dont le myélome est connu ; mais elle peut être isolée et précéder de plusieurs mois les premiers signes du myélome.

Les mots clés : Gammopathie monoclonale ; Myélome Multiple ; atteinte rénale ; Isotype.

Gammopathy monoclonal significantly renal is one of the hematologic malignancies, characterized by plasmocytes infiltration of the bone marrow with infiltration of immunoglobulins at the glomeruli.

We performed a retrospective and prospective study on the clinical, biological and immunochemical aspects of multiple myeloma with renal involvement. From January 2016 to May 2018, 621 cases of monoclonal gammopathies were recorded at Beni Messous University Hospital, including 39 cases of Multiple Myeloma with kidney disease. In our series, the majority age group was between 70 and 80 years old with an average age of 64.49 ± 11.42 years and a sex ratio (H / F) of 1.16. Our results reveal that 61.53% of patients presented other pathologies such as nephrotic or anemic syndrome. The biological characteristics revealed, on the one hand, high levels of β_2m in 94.59% of patients, and on the other hand, hypo albuminemia in 87.18% of patients included in our study. The dominant telltale symptoms were renal failure (82.05%) and anemia followed by bone pain and hypercalcemia. We found an electrophoresis peak in the β zone in 38 patients (30.76% of cases) and in zone γ in 64.10% of cases. The IgG isotype characterized more than half of the multiple myelomas with renal impairment of our series (56.84%). The IgA isotype only concerned 20.55% of cases. We found an association between the serum and urinary levels of albumin and Bence Jones protein markers, respectively. Indeed, there is no correlation between the serum levels of the two prognostic markers albumin and those of the β_2m . High levels of β_2m have been associated with anemic syndrome, bone pain and hypercalcemia. The characterization of biological parameters (serum levels of β_2m and albumin) allowed us to establish an ISS classification, thus stadifying the majority of ISS III cases.

Renal damage during MM is usually observed in a subject whose myeloma is known; but it can be isolated and precede for several months the first signs of myeloma.

Key words : monoclonal gammopathy; Multiple myeloma; renal impairment; Isotype.

تعتبر أمراض الغلوبولينات المناعية أحادية النسيلة المتعلقة بالفشل الكلوية إحدى الأمراض الدموية الخبيثة، التي تتميز بنفاذية الخلايا البلازمو سيتية على مستوى نقي العظم وأيضاً على مستوى الوحدات الوظيفية للكلية.

لقد أجرينا دراسة وصفية لسنوات قبلية وللسنة الحديثة، والتي تتعلق بالخصائص الطبية والبيولوجية والكيمو مناعية لتقييم الغلوبولينات المناعية المتعلقة بالفشل الكلوي، وذلك من بداية جانفي 2016 إلى ماي 2018، 621 حالة شخصت بتقييم الغلوبولينات المناعية على مستوى المستشفى الجامعي لبني مسوس بالجزائر العاصمة، من بين هاته الحالات 39 حالة متعلقة بأمراض الكلى. من خلال دراسة مجموعتنا وجدنا أن صنف العمر الغالب يتراوح من 70 إلى 80 سنة بمعدل $11,42 \pm 64,49$ سنة، وفي ما يخص نسبة الجنس (ذكور/إناث) كانت 1,16. لقد وجدنا كنتائج أيضاً أن $61,53\%$

من المرضى يعانون من أمراض أخرى مثل أمراض الكلى والأنيميا. وفيما يخص الخصائص البيولوجية وجدنا النتائج التالية: $94,59\%$ من المرضى لديهم مستويات عالية $\beta 2m$ ، وأيضاً نسبة $87,18\%$ من المرضى الذين يعانون من مستويات

متدنية من الألبومين. فيما يخص الأعراض الأساسية المرافقة للفشل الكلوي بنسبة $82,05\%$ والأنيميا، يليهم الأوجاع المفصلية ومستويات الكالسيوم العالية للمرضى. ومن خلال تقنية هجرة البروتينات (électrophrèse) وجدنا أن هجرة

البروتينات كانت في المنطقة β بنسبة $30,78\%$ من أصل 38 مريض وفي المنطقة γ $64,10\%$ ، الغلوبولين المناعي

IgG كان غالباً بنسبة $56,84\%$ في مجموعتنا، أما IgA كان بنسبة $20,55\%$ فقط من حالات المرضى المدروسة. بحثنا

أيضاً عن العلاقة بين مستويات الألبومين وبروتين (Bence Jones) الموجودة في الدم والبول، كما لاحظنا أنه لا يوجد

إرتباط بين علامتي التشخيص بعد العلاج (الألبومين و $\beta 2m$)، المستويات العالية ل $\beta 2m$ كانت متعلقة بالأنيميا، والأوجاع

المفصلية، والمستويات العالية للكالسيوم فيما يخص خصائص الوحدات البيولوجية المستعملة (الألبومين و $\beta 2m$ في الدم) هي إنشاء ترتيب ISS (ترتيب مراحل المرض)، وجدنا أغلب المرضى في مرحلة متقدمة جداً.

الفشل الكلوي يوجد لدى المرضى الذين شخصوا بتقييم الغلوبولينات المناعية من قبل، ولكن يمكن له أن يكون منفصل

أو يسبق عدة أشهر قبل ظهور أعراض تقييم الغلوبولينات.

الكلمات المفتاحية: أمراض الغلوبولينات المناعية أحادية النسيلة، تقييم الغلوبولينات المناعية، الفشل الكلوي، الغلوبولين.

REMERCIEMENTS.....	
DÉDICACE	
LISTE DES ABREVIATIONS.....	
LISTE DES FIGURES.....	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES ANNEXES	
TABLE DES MATIÈRES.....	
INTRODUCTION.....	
PARTIE LITTÉRATURE	
CHAPITRE I.....	
Rappels bibliographiques.....	3
I. 1.Ontogenèse,différenciation et fonction des Lymphocytes B.....	3
I. 2. Les immunoglobulines.....	7
II.Physiopathologie du myélome multiple.....	8
II.1.1. Oncogenèse du Myélome Multiple.....	10
II.1.2. nteractions des clones plasmocytaires avec leur environnement.....	12
II.1.3Molécules de communication intercellulaire dans le MM.....	14
II.1.4. Critères diagnostic du Myélome Multiple.....	14
II.1.5. Critères pronostics du Myélome Multiple.....	15
II.2.Conséquences clinico- biologiques et physiopathologie du myélome multiple.....	16
II.2. 1. Atteinte osseuse	16

II. 2. 2. Atteinte rénale	17
III.Traitements médicamenteux.....	20
CHAPITRE II.....
MATÉRIEL ET MÉTHODES.....
I.Patients.....	21
II. Matériel.....	22
II.1. Matériel biologique.....	22
II.2. Matériel non biologique.....	22
III.Méthodes	22
III.1. Dosage des protéines.....	23
III.1.1. Taux de protides sériques (méthode de Biuret).....	23
III.1.2. Électrophorèse des protéines sériques (EPP).....	23
III.2.Électrophorèse des protéines sériques sur gel (IEPP).....	25
III. 3. Immunofixation.....	27
III.4. Néphélométrie à rayon laser.....	28
IV.Étude statistique.....	29
CHAPITRE III.....
RÉSULTAT ET DISCUSSION.....
I.Aspects épidémiologiques de la population étudiée.....	31
I.1.Répartition des patients selon le sexe.....	31
I.2.Répartition des patients selon les différentes tranches l'âge.....	32
II.Manifestations cliniques de la population étudiée.....	33
II.1.Répartition des patients selon les antécédents personnels.....	34
III.Aspects biologiques de la population étudiée.....	35
III.1.Répartition des patients en fonction du taux de l'albumine.....	35

III.2.Répartition des patients selon la concentration de la β -2microglobuline.....	36
III.3.Répartition des patients selon lassification ISS.....	37
IV.Aspects immunochimiques de la population étudiée.....	38
IV.1.Répartition des isotypes selon la zone de migration sur l'EPP.....	39
IV.2.Répartition des patients selon le type du composant monoclonal.....	40
IV.2.1.Répartition des patients selon le type d'immunoglobuline monoclonale.....	41
IV.2.2.Répartition des patients selon le type de la chaîne légèrelibre.....	42
IV. 2. 3. Répartition des patients selon la classe de la chaine lourde et de la chaine légère du Composant Monoclonal.....	43
IV. 3. Répartition des patients selon la présence ou l'absence de la protéinurie de Bence Jones	44
V.Recherche de corrélations entre les différents marqueurs pronostiques.....	46
V.1.Corrélation entre les taux sériques de la β -2-microglobuline et de l'albumine.....	46
VI. Recherche d'une association entre les différents signes clinico-biologiques et le taux sérique de la β-2-microglobuline.....	47
VI.1. recherche d'une association entre les taux sériques de l'albumine et de la Protéine de Bence Jones.....	48
VI.2. Recherche d'une association entre les taux sériques des chaines légères et l'insuffisance rénale.....	48
CHAPITRE IV.....
Conclusion et Perspective

Figure 1 : De la cellule souche hématopoïétique au lymphocyte B immature.....	3
Figure 2 : Développement des lymphocytes B aux plasmocytes.....	4
Figure 3 : Voies de signalisation intracytoplasmiques mises en jeux par l'activation.....	5
Figure 4 : Différenciation du centrocyte en lymphocyte B mémoire ou en plasmocyte Selon les signaux d'activation.....	6
Figure 5 : Réarrangement des segments de gènes codant les chaînes H des immunoglobulines	7
Figure 6 : Diagramme de Circos montre les principaux changements génétiques dans le génomme du myélome.....	9
Figure 7 : Mécanisme d'interaction p53-miARN dans Myélome multiple.....	10
Figure 8 : Événements génétiques associés à l'évolution du myélome multiple.....	11
Figure 9 : Les interactions entre les cellules du myélome multiple (MM) et leur microenvironnement.....	12
Figure 10 : Principales voies de signalisations de la cellule myélomateuse.....	13
Figure 11 : Mécanismes de l'ostéolyse du myélome.....	17
Figure 12 : les Mécanismes de lésion rénale aiguë induite par (FLCs) au cours du myélome multiple.....	19
Figure 13 : Inhibition du complexe NF- κ B (nuclear factor-kappa B) par le bortezomib.....	20
Figure 14 : Dosage de taux des protides.....	23
Figure 15 : Principe de l'électrophorèse capillaire.....	24
Figure 16 : Principe de l'électrophorèse des protéines sériques en gel d'agarose.....	25
Figure 17 : Électrophorèse des protéines sérique sur SAS-3-.....	26
Figure 18 : Principe d'immunofixation (IF).....	27
Figure 19 : Principe de néphélométrie Laser.....	29
Figure 20 : Répartition des patients en fonction du sexe.....	31
Figure 21 : Histogramme représentant la répartition des patients selon l'âge.....	32
Figure 22 : Histogramme représentant la répartition des patients de Myélome en association avec d'autre maladie ou syndrome.....	34

Figure 23 : Répartition des patients selon la concentration d'albumine (g/l).....	36
Figure 24 : Répartition des patients selon le taux sérique de β 2m (mg/l).....	37
Figure 25 : Électrophorèse des protéines sériques sur V8.....	38
Figure 26 : Répartition des composants monoclonale selon la zone de migration (mg/l).....	40
Figure 27 : Immunofixation des protéines sériques sur membrane.....	41
Figure 28 : Répartition des patients selon le type du composant monoclonal.....	41
Figure 29 : Répartition des patients selon le type de chaîne légère libre.....	42
Figure 30 : Répartition des patients selon la présence ou l'absence de la protéinurie de Bence Jones au niveau des urines (n=39).....	45
Figure 31 : Corrélation entre les taux sériques de la β 2m et l'albumine.....	46

Tableau I : Fréquence des principales caractéristiques clinico-biologiques.....	33
Tableau II : Répartition des patients selon la classification ISS.....	37
Tableau III : Répartition selon la classe de la chaîne lourde et de la chaîne légère.....	44
Tableau IV : Les signes clinico-biologiques en fonction de la concentration sérique de la β_2m	48
Tableau V : Association entre l'albumine et la protéine de Bence Jones.....	49
Tableau VI : Association entre les chaînes légères et l'insuffisance rénale.....	49

A

Ag-Ac : Antigen - Anti Body.

ATM/ATR : Ataxia Telangiectasia Mutated/ Serine-threonine-protein kinase.

B

Bcl-2 : B-cell lymphoma-2.

BCR : B-Cell Receptor.

BRAF : **B-Raf** proto-oncogene, serine/threonine kinase.

Btk : Bruton tyrosine kinase.

β2M : β2-Microglobulin

C

CCL2 : C-C motif Chemokine Ligand 2.

C/EBP : CCAAT-Enhancer-Binding Proteins.

CIRC : International Center for Research on Cancer.

CL : Light Chain.

CPTs : Proximal Tubule Cell.

CRP: C-Reactive Protein

CS : Class Switching.

CSM : Mesenchymal Stem Cells.

D

DIS3 : Exosome complex exonuclease RRP44.

Dkk1 : Dickkopf 1.

DNA-PK : DNA-dependent Protein Kinase.

E

EPO : Erythropoietin.

EPP : Electrophoresis of Proteids.

ERK : Extracellular signal-Regulated Kinases.

F

FAM46C : Family with sequence similarity 46, Member C.

FGFR3 : Fibroblast Growth Factor Receptor 3.

FLCs : Free Light Chain.

FRZB : Frizzled Related protein.

G

GAM : IgG, IgA, IgM.

GEM : Glycolipid-Enriched Microdomains ou lipid rafts.

GDF-15 : Growth and Differentiation Factor 15.

H

HB-EGF : Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-like growth factor.

HGF : Hepatocyte Growth Factor.

HHV-8 : Human Herpesvirus 8.

I

IF : Immunofixation.

Ig : Immunoglobulin.

IgA : Immunoglobulin A.

IgE : Immunoglobulin E.

IgD : Immunoglobulin D.

IgG : Immunoglobulin **G**.

IGH : Immunoglobulin **H**avy locus.

IgM : Immunoglobulin **M**.

IKK : NF-**K**B Inhibitor (**I**K-B) **K**inase.

IL : Interleukin.

IMWG : International **M**yeloma **W**orking **G**roup.

IRM : Magnetic Resonance Imagery.

ISS : International Staging System.

J

JAK/STAT : **J**anus **K**inases /Signal Transducers and Activators of Transcription.

K

κ : **K**appa Light Chain.

KRAS : V-Ki-ras2 **K**irsten **R**at Sarcoma viral oncogene homolog.

L

LB : **B** Lymphocytes.

Λ : Lambda Light Chain.

M

MAPK : Mitogen Activated **P**rotein **K**inases.

ME : Electronic **M**icroscopy.

MGUS : **M**onoclonal **G**ammopathy of **U**ndetermined **S**ignificance.

MIP-1 : **M**acrophages **I**nflammatory **P**rotein **1**.

mirARN : **m**icro-**A**RNAs.

MM : **M**ultiple **M**yeloma.

myc : Myelocytomatosis.

N

NF - κ B : Nuclear Factor-kappa B.

NRAS : proto-oncogene, GTPase.

O

OMS : World Health Organization.

OPG : Osteoprotegerin.

P

P53 : Tumor Protein 53.

PBJ : Bence Jones Protein.

PI3K : Phosphoinositide 3-Kinase.

PKB/AKT : Protein Kinase B.

PRKD2 : Protein Kinase D2.

R

RAG1 : Recombination Activating 1.

RAG2 : Recombination Activating 2.

RAS : Rat Sarcoma.

RANK/RANK-L : Receptor Activator of Nuclear Factor- κ /Receptor Activator of Nuclear Factor- κ -Ligand.

Rb : Retinoblastoma.

RFLC : Kappa / lambda Ratio.

RT-PCR : Reverse Transcription -Polymerase Chain Reaction.

Runx2/cbfa1 : Runt-related transcription factor 2/ core-binding factor subunit alpha-1.

S

SF : Fanconi Syndrome.

Syk : Spleen Tyrosine Kinase.

T

THPs : Tamm-Horsfall Proteine.

TGF β : Transforming Growth Factor- β .

TNF α : Tumor Necrosis Factor- α .

TNF- β : Tumor Necrosis Factor β .

Tyro3 : Protein Tyrosine Kinase.

U

Ub : Ubiquitin.

V

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor.

A

Agent alkylant : Agent chimiothérapeutique comme le melphalan ou le cyclophosphamide. Le terme alkylant fait référence au mode d'action de ces médicaments qui induisent des ponts au niveau de l'ADN des cellules myélomateuses pour bloquer leur division.

Apoptose : (mort cellulaire programmée) est le processus par lequel des cellules déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal.

B

Bence-Jones : Une protéine myélomateuse présente dans les urines. La présence de cette protéine, quelle qu'en soit la quantité, est anormale.

C

Cellule souche hématopoïétique (CSH) : Cellules immatures à l'origine de toutes les cellules sanguines. Elles se localisent dans la moelle osseuse et peuvent être prélevées pour la réalisation de greffes.

Chaîne légère libre : Fraction de la protéine monoclonale de faible poids moléculaire qui peut être mesurée à l'aide d'un dosage des chaînes légères libres sériques, le test Freelite.

Pic monoclonal : C'est une variation brusque et rapide, de durée très brève, plus ou moins ample, sur un diagramme d'électrophorèse ou d'immunoélectrophorèse, signalant par exemple la présence anormale, en particulier trop importante, d'une immunoglobuline.

Créatinine : C'est un produit de dégradation du phosphate de créatine dans le muscle, Le taux sanguin de créatinine dépend de la capacité d'élimination du rein et de la masse musculaire ; son évaluation donne une indication de la capacité de filtration rénale.

Cytokine : Substance sécrétée par des cellules du système immunitaire qui stimulent la croissance ou l'activité d'un type particulier de cellules. Les cytokines sont produites localement et circulent dans le sang.

D

Décantation : C'est une opération de séparation mécanique, sous l'action de la gravitation, de plusieurs phases non-miscibles dont l'une au moins est liquide, la décantation permet de laisser les phases se séparer avant centrifugation pour minimiser le mélange des phases.

E

Exclusion allélique : Une exclusion allélique indique l'expression génique d'un seul des deux allèles, maternel ou paternel (les lymphocytaire B synthétise des immunoglobulines produites par un seul des deux allèles).

G

Gammopathies monoclonales : Correspondent à la présence dans le sang ou les urines d'une immunoglobuline (anticorps) monoclonale (produite par un clone de cellules immunitaires).

Glomérule : Première partie du néphron (unité anatomique et fonctionnelle du rein), où a lieu la formation de l'urine primitive, élaborée à partir du sang.

H

Hémodilution : C'est la dilution du sang, elle peut se produire lors de l'afflux de liquides des tissus vers le sang.

Hémopexine : C'est une glycoprotéine sanguine dont le rôle est de se lier aux molécules hèmes issues de la dégradation de l'hémoglobine.

Hypergammaglobulinémie : Les gammaglobulines sont des fractions de protéines qui appartiennent à la famille des immunoglobulines, une hypergammaglobulinémie correspond à un taux anormalement élevé de gammaglobulines dans le sang.

Hyperprotéinémie : C'est l'augmentation anormale des taux de protéines dans le sang.

Hypoalbuminémie : C'est la diminution de taux de l'albumine dans le sang.

L

Lésions ostéolytiques : Région osseuse qui présente une anomalie sur les examens radiologiques, une partie saine de l'os étant érodée. Les lésions ostéolytiques ressemblent à des trous dans les os.

N

Néphropathie : Toute affection qui touche les reins et à l'origine d'une insuffisance rénale.

O

Ostéoblaste : Cellule responsable de la formation des os.

Ostéoclaste : Cellule de la moelle osseuse située à la jonction de la moelle osseuse et de l'os, qui détruit l'os « résorption osseuse ». La combinaison de l'augmentation de la résorption osseuse et du blocage de la formation osseuse entraîne l'apparition de lésions ostéolytiques.

Ostéoporose : C'est une maladie diffuse du squelette qui fragilise les os en diminuant leur résistance, et qui expose ainsi les personnes touchées au risque de fracture.

P

Protéinurie : C'est la présence de protéines dans l'urine, qu'elle soit physiologique ou pathologique. Elle est quantifiée en mg par 24 h.

R

Résorption osseuse : C'est la dégénérescence du tissu osseux, les cellules responsables de la résorption osseuse sont les ostéoclastes.

T

Thrombopénie : Correspond à une diminution du nombre de plaquettes dans le sang.

Transferrine : C'est une protéine sérique de type bêtaglobuline, elle est synthétisée par le foie, la fonction de transferrine est le transport du fer de l'intestin vers les réserves hépatiques et vers les réticulocytes.

Introduction

De la naissance à la mort, chaque être humain est porteur de cellules cancéreuses. Le cancer ou tumeur maligne est une maladie redoutée caractérisée par une prolifération cellulaire anormalement importante formée à partir de la transformation par mutation ou instabilité génétique d'une cellule initialement normale **(Guilhem Denis, 2016)**.

En 2012, le CIRC, l'agence spécialisée de l'Organisation mondiale de la santé sur le cancer, on comptait approximativement 14 millions de nouveaux cas et 8,2 millions de décès liés à la maladie. Le cancer qui constitue la deuxième cause de décès dans le monde a fait 8,8 millions de morts en 2015. Près d'un décès sur 6 dans le monde est dû au cancer**(OMS)**.

Pour la situation du cancer en Algérie durant ces dernières décennies le cabinet de consulting et de recherche Oxford Business Group a révélé que le taux de prévalence du cancer dans notre pays est passé de 80 cas pour 100 000 personnes dans les années 1990 à 120 cas en 2008. Il est à 300 cas pour 100 000 personnes au cours de ses dernières années **(Zitouni et al., 2014)**.

Le Myélome Multiple ou maladie de Kahler est une hémopathie maligne caractérisée par le développement d'un clone de plasmocytes tumoraux envahissant la moelle hématopoïétique, responsable de la synthèse d'une immunoglobuline monoclonale complète ou incomplète. Il s'agit d'une hémopathie maligne fréquente qui touche principalement les sujets âgés. Le myélome multiple représente environ 10 à 15 % des cancers hématologiques, ce qui le situe au deuxième rang par ordre de fréquence après les lymphomes **(Smith et Yong, 2013 ; Moulin, Peraldi, 2016)**.

Le diagnostic du myélome multiple repose sur la confrontation des données cliniques, immuno-hématologiques et histologiques. L'analyse de la biopsie rénale permet de préciser la nature, la localisation et le caractère organisé ou non des dépôts des immunoglobulines monoclonales **(Moumas et al., 2011)**.

La survie des patients a été certes prolongée avec l'amélioration des traitements symptomatiques, la chimiothérapie, l'introduction de la greffe de moelle et l'immunothérapie, cependant, mais moins de 1% des malades ont une durée de vie supérieure à 15 ans.

L'atteinte rénale au cours du myélome 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. En effet ; la médiane de survie des myélomes présentant une atteinte rénale est plus courte que celle des

myélomes sans atteinte rénale. L'insuffisance rénale aiguë avec protéinurie faite de chaînes légères d'immunoglobuline ou tubulopathie myélomateuse, est la complication rénale la plus fréquente du myélome. La protéinurie glomérulaire constituée principalement d'albumine ou d'amylose. La tubulopathie proximale ou syndrome de Fanconi est exceptionnel au cours du myélome (**Hutchison et al., 2017**).

Le traitement dépend des causes sous-jacentes, il permet de réduire les taux de chaînes légères et de protéines monoclonales qui passent par les reins. Un diagnostic précoce et une intervention rapide sont essentiels pour prévenir toute lésion rénale permanente.

Le présent travail est une étude rétrospective et prospective concernant des patients atteints de myélome multiple avec atteinte rénale. Nous avons décrit les différents aspects épidémiologiques, clinico-biologiques et évolutifs relatifs à cette cohorte. Par ailleurs, nous avons évalué les facteurs prédictifs de l'atteinte rénale et de sa sévérité chez ces patients.

Le diagnostic du myélome est effectué par l'examen clinique et confirmé par l'examen biologique, et ce à l'aide de l'électrophorèse et de l'immuno-fixation des protéines sériques et urinaire. Ce travail nous aidera à déterminer l'isotype le plus fréquent dans le myélome multiple avec atteinte rénale dans notre échantillonnage.

*Chapitre 9 : Rappels
Bibliographiques*

I. Rappels physiologiques

I. 1. Ontogenèse, différenciation et fonction des Lymphocytes B

La moelle osseuse est un tissu spécialisé exerçant plusieurs fonctions la principale est l'hématopoïèse. Cette dernière regroupe l'ensemble des mécanismes assurant le remplacement continu et régulé des différentes cellules sanguines. Elle est localisée dans la cavité médullaire de nombreux os plats (**Boutonat *et al.*, 2008**).

Les lymphocytes B naïfs sont produits dans la moelle osseuse à partir des cellules souches hématopoïétiques (CSH CD34+), passent dans le sang périphérique où ils circulent avec une demi-vie de trois jours et vont, dans les organes lymphoïdes secondaires, pour se différencier au contact de l'antigène en lymphocyte B mémoire ou en plasmocyte (**De Vos, 2001 ; Janeway *et al.*, 2009**).

Le plasmocyte migre ensuite vers la moelle osseuse pour se différencier en plasmocyte mature synthétisant en grande quantité des immunoglobulines (Ig) ou anticorps (forme secrétée du récepteur), effecteur de la réponse immunitaire humorale (**Binet *et al.*, 2004**).

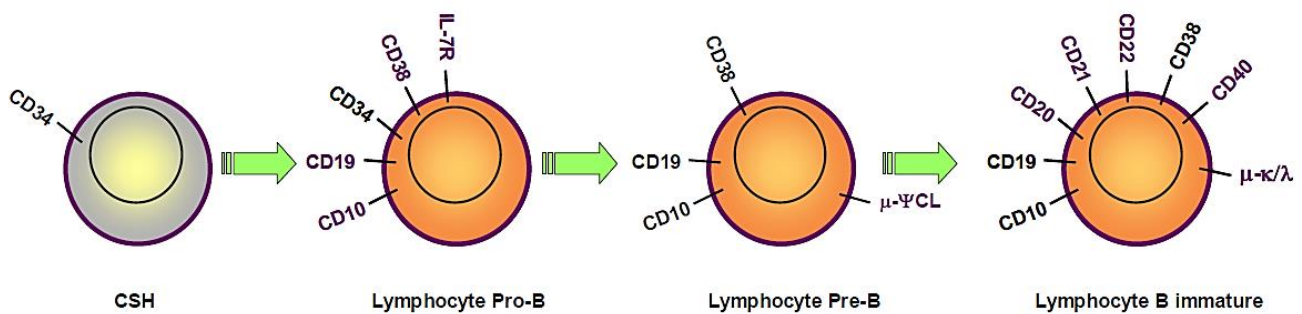


Figure 1 : De la cellule souche hématopoïétique au lymphocyte B immature (**De Vos, 2001**).

Le premier stade identifié du lymphocyte B est le lymphocyte pro-B au cours duquel commence le réarrangement des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines (d'abord *DH-JH* puis *VH-DHJH*) par l'activation des enzymes de recombinaison RAG1 et RAG2 (**Alt *et al.*, 2007**).

D'une manière générale, le réarrangement de la chaîne kappa précède celui de la chaîne lambda : le lymphocyte pré-B réarrange d'abord le gène de la chaîne légère kappa, et en d'absence d'un réarrangement fonctionnel, procède au réarrangement du locus de la chaîne lambda (**Figure1**) (**LeBien, 2000**). Le lymphocyte B mature naïf est caractérisé par la coexpression des deux isotypes membranaire de IgD et IgM par épissage alternatif du gène de la chaîne lourde des immunoglobulines (**De Vos, 2001**).

les récepteurs de la famille Notch et leurs ligands pourraient également intervenir dans le développement B (**Milner et Bigas, 1999 ; Bertrand et al., 2000**).

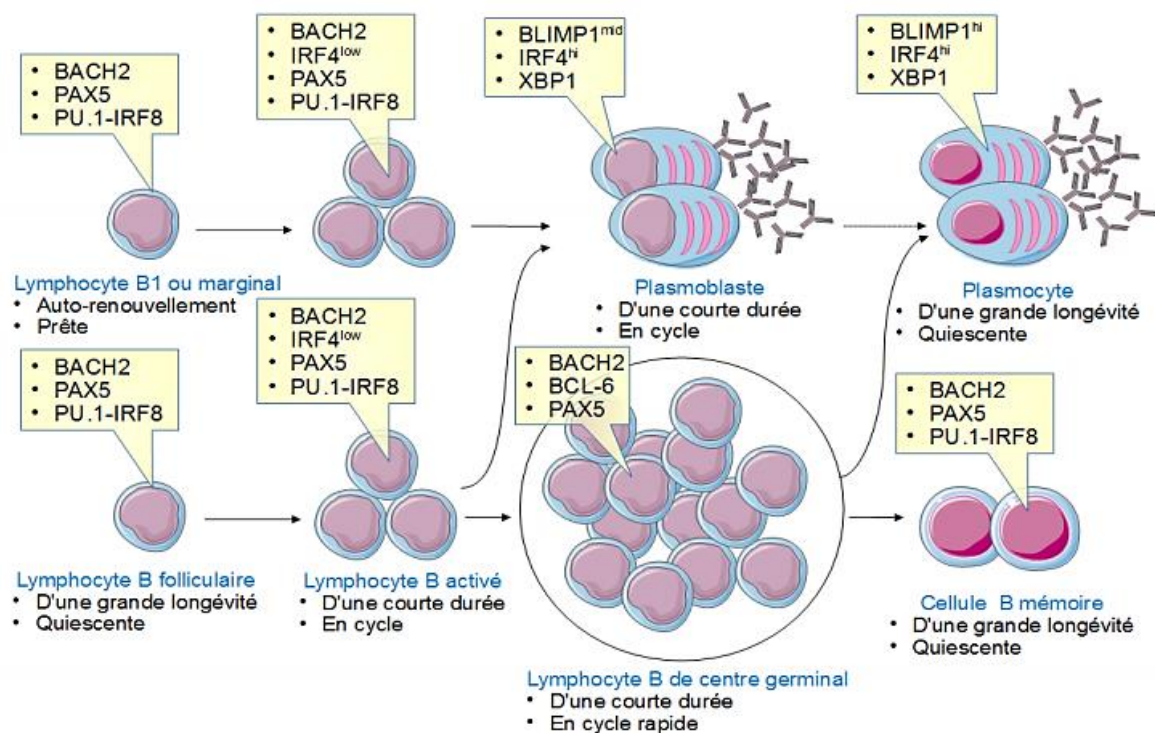


Figure 2 : Développement des lymphocytes B en plasmocytes (Nutt et al., 2015).

BACH2 : BTB Domain And CNC Homolog 2 ; PAX5 : Paired Box 5 ; IRF8 : Interferon Regulatory Factor 8 ; IRF4 : Interferon Regulatory Factor 4 ; XBP1 : X-Box Binding Protein 1 ; BLIMP1 : B-Lymphocyte-Induced Maturation Protein 1 ; BCL6 : B-Cell CLL/Lymphoma 6.

L'activation du lymphocyte B est déclenchée par l'agrégation des IgM de surface au contact d'un antigène multivalent. Ceci déclenche une cascade de transduction complexe qui a lieu au niveau de régions de la membrane cellulaire appelés GEM (Glycolipid-Enriched Microdomains ou Lipid Rafts) (**Figure 3**) (**Matsuuchi et Gold, 2001**).

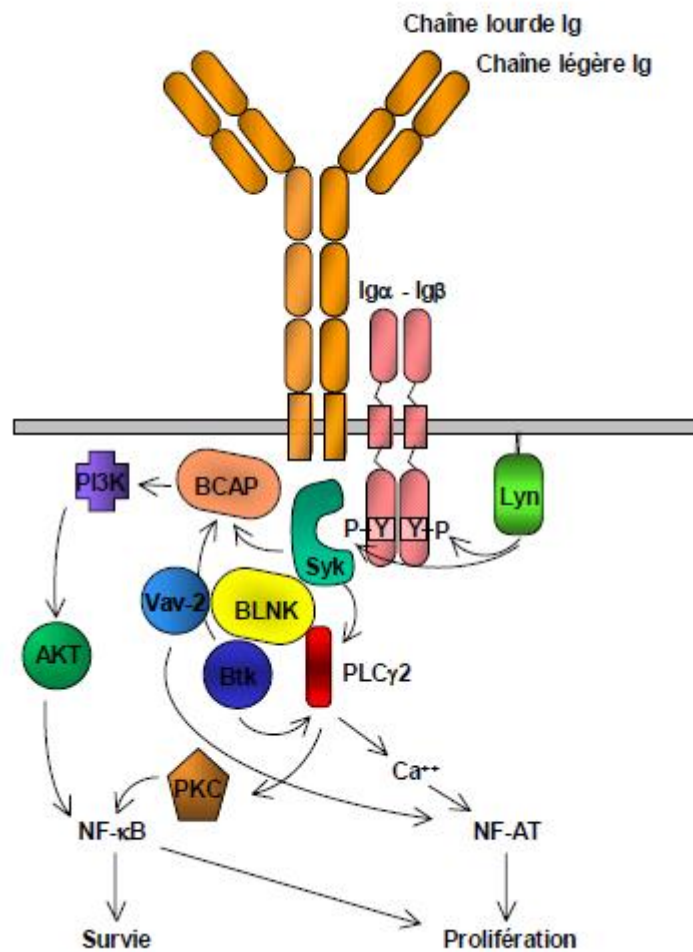


Figure 3 : Voies de signalisation intracytoplasmiques mises en jeux par l'activation du BCR (De Vos, 2001).

Une autre voie de signalisation induite par l'activation du BCR est la voie de la PI3K. Les protéines tyrosine kinases Syk et Btk vont phosphoryler une protéine adaptatrice la BCAP qui fixe, sur ses tyrosines phosphorylées, la sous unité p85 de la PI3K en les activant (Okada et al., 2000). A son tour, la PI3K va débiter une cascade de signalisation dont un des aspects important est l'activation de PKB/AKT qui a un rôle dans la prolifération et la survie du lymphocyte B (Marshall et al., 2000).

De nombreuses cytokines participent également à la prolifération et à la survie des lymphocytes B telles que : IL-2, IL-4, IL-10, IL-13 et HGF (Klein et al., 1995 ; Pals et al., 1998).

Le signal d'activation fournit par le lymphocyte T *via* le couple CD40/CD40L (**Figure 4**) va induire à cette étape la commutation isotypique ou CS (class switching) des Ig qui aboutit à la production des isotypes d'IgA, d'IgG et d'IgE de même spécificité (**De Vos, 2001**).

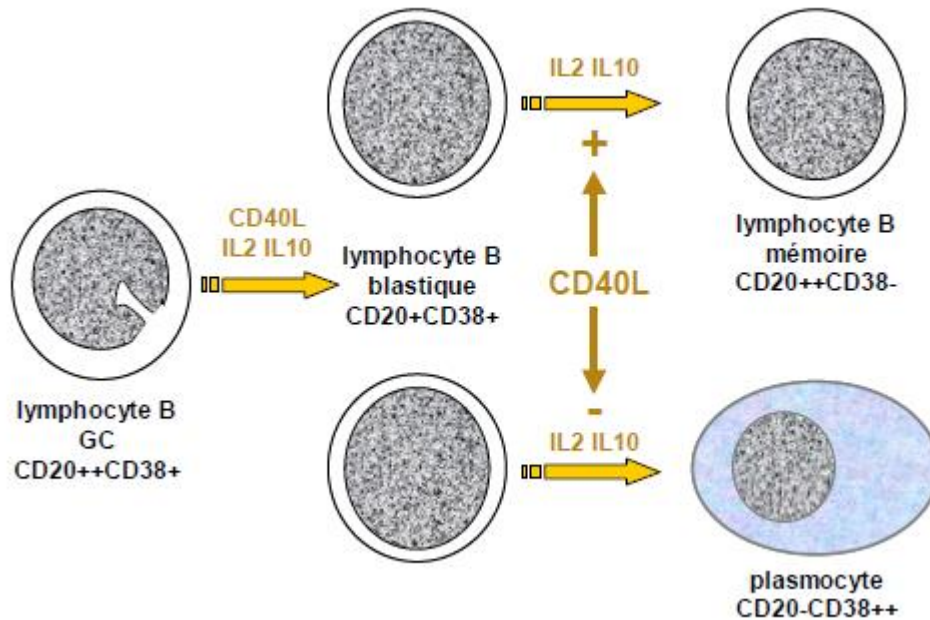


Figure 4 : Différenciation du centrocyte en lymphocyte B mémoire ou en plasmocyte
Selon les signaux d'activation (**Liu et al., 1997**).

Le CS est un réarrangement du double brin d'ADN entre la séquence « S » (switch) du gène C de l'IgM (S μ) et le S du gène C en aval. La portion d'ADN entre les deux séquences est ensuite excisée (Snapper et al., 1997). Le CS fait intervenir les protéines Ku70 et Ku80, qui sont initialement associées au CD40 puis sont transloquées dans le noyau après activation du CD40, et la DNA-PK pour la réparation des cassures double brin que génèrent le CS (**Morio et al., 1999**). Au cours de ce remaniement génétique, des erreurs peuvent se produire et contribuer à la cancérisation du plasmocyte (**De Vos, 2001**).

I. 2. Les immunoglobulines

En temps normal, les plasmocytes sécrètent différents types d'immunoglobulines, en fonction des besoins du système immunitaire. Leur structure est composée de deux chaînes lourdes (heavy 'H') identiques (50-70kD) et de deux chaînes légères (light 'L') identiques (23kD). Les chaînes lourdes peuvent être de cinq sortes : IgG, IgA, IgD, IgE et IgM. Les chaînes légères, quant à elles, sont de deux types : kappa et lambda. Les immunoglobulines sont dosées dans le sang et les urines. Les immunoglobulines circulent dans le sang et ont pour but d'agir contre les molécules étrangères (toxines, bactéries...) et les cellules anormales (Jacopin, 2015).

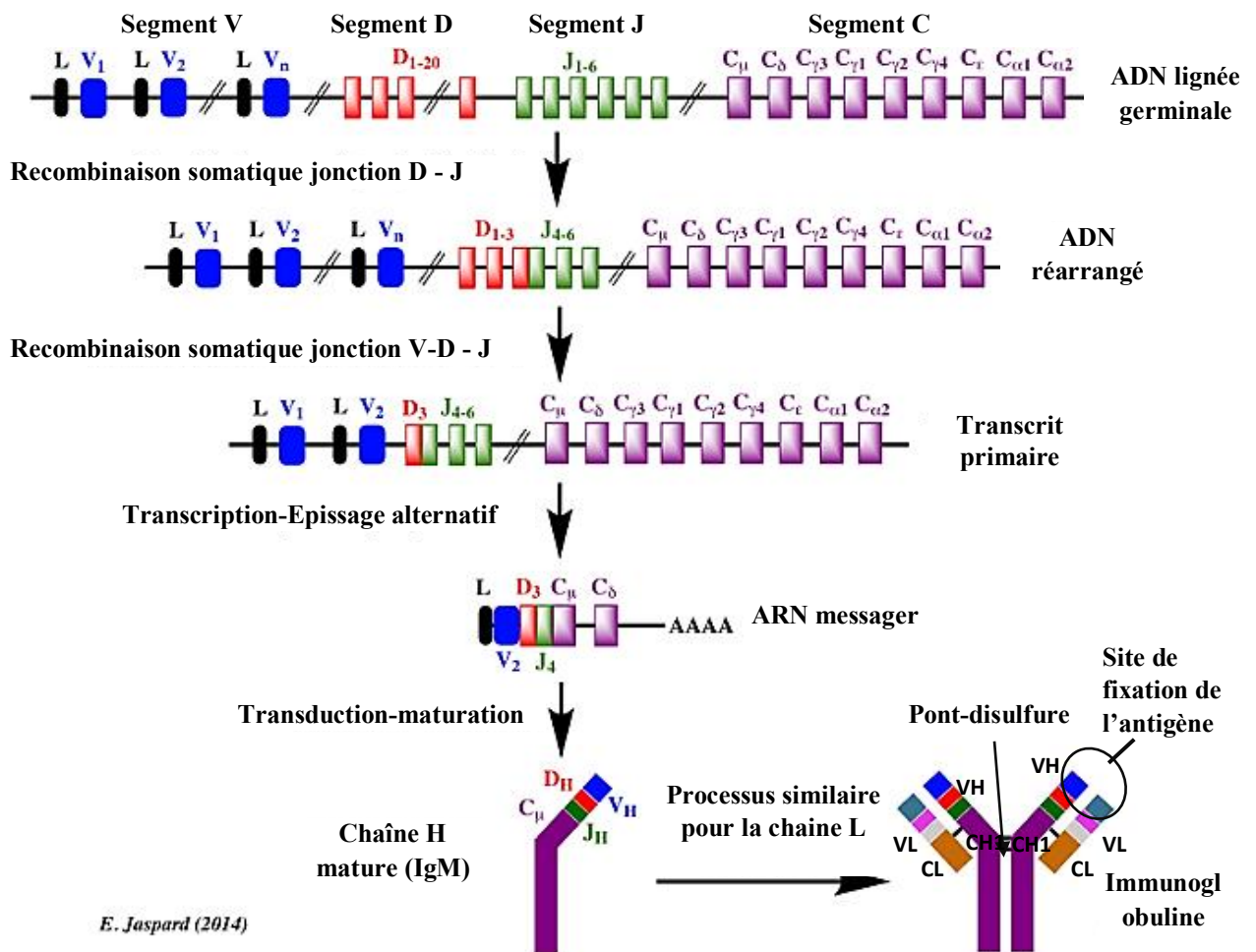


Figure 5 : Réarrangement des segments de gènes codant les chaînes H des immunoglobulines (Jaspard, 2014).

V : gène variable ; D: gènes de diversité ; J:gène de jonction ; C: gène de la partie constante.

II. Physiopathologie du myélome multiple

Le myélome est la conséquence du développement incontrôlé d'un plasmocyte anormal qui se multiplie à l'identique dans la moelle osseuse et l'envahit progressivement. Les plasmocytes anormaux produisent une immunoglobuline (ou un fragment d'immunoglobuline) en quantité anormalement élevée et qui ne joue plus son rôle dans le cadre du système immunitaire ; On l'appelle immunoglobuline monoclonale. Dans de très rares cas, il arrive toutefois que le myélome ne sécrète pas d'immunoglobuline. Parfois, seules les chaînes légères sont produites et passent dans les urines : on parle alors de myélome à chaînes légères (**Jacopin, 2015**).

Dans la majorité des cas, le myélome est précédé d'un état bénin, qualifié de « prémyélomateux indolent », aussi connu sous le nom de MGUS (*Monoclonal Gammopathy of Unknown Significance*). Dans ce cas, des plasmocytes sont présents dans la moelle osseuse, mais en quantité normale. La MGUS est assez courante, puisque 3 à 4 % de l'ensemble des personnes de plus de 50 ans sont touchées. La fréquence des MGUS augmente avec l'âge. Après 25 ans de suivi, un quart des personnes concernées par une MGUS auront développé un myélome. Le myélome est dit multiple quand plusieurs os sont touchés. En effet, les plasmocytes anormaux, aussi appelés cellules myélomateuses, peuvent être retrouvés à l'intérieur de tous les os du corps (**Jacopin, 2015**).

L'évolution de la maladie est marquée par des modifications phénotypiques, cytogénétiques et moléculaires des cellules myélomateuses. Ces modifications se traduisent par une capacité croissante de prolifération du clone plasmocytaire (**Chaibi et al., 2000**).

La nature exacte de la cellule à l'origine du MM reste mal connue. Elle est vraisemblablement, comme c'est le cas pour de nombreuses tumeurs B, centrogerminative ou post-centrogerminative, c'est-à-dire postérieure aux événements de mutations somatiques, de sélection et de commutation isotypique (**Barillé-Nion et al., 2003**).

En effet, la protéine monoclonale impliquée est en général une IgG (60% des cas) ou une IgA (20% des cas), très rarement une IgD (1 à 2% des cas) et exceptionnellement une IgM (**Feuillard et al., 2000**).

II. 1. 1. Oncogénèse du Myélome Multiple

La première étape serait la translocation du gène des chaînes lourdes des Ig, situé sur le chromosome 14 (locus IgH) (Avet-Loiseau *et al.*, 2000). Il s'agit de phénomènes oncogéniques impliquant plusieurs gènes tels que le gène *RAS*, *Rb*, *p53* et les gènes *myc* ou encore *bcl2* dont la mutation, la perte ou la surexpression favorisent l'activation des plasmocytes. Les anomalies chromosomiques ou mutations génétiques observées au sein du MM sont des facteurs pronostiques (Pottier, 2014). Les anomalies génétiques et épigénétiques peuvent être variées et nombreuses dans le cas du myélome multiple. Nous retrouvons : les variations héréditaires (trois loci en 2p, 3p et 7p) ; les translocations, les anomalies du nombre de copies (pertes des gènes suppresseurs de tumeurs tels que *FAM46C*, *DIS3*), gains du nombre de copies, les mutations (gènes de la voie ERK et PI3K), les anomalies de méthylation, les microARN (change au cours de la progression de la MGUS vers le myélome tels que miARN 17 ~ 92) (Gareth *et al.*, 2012).

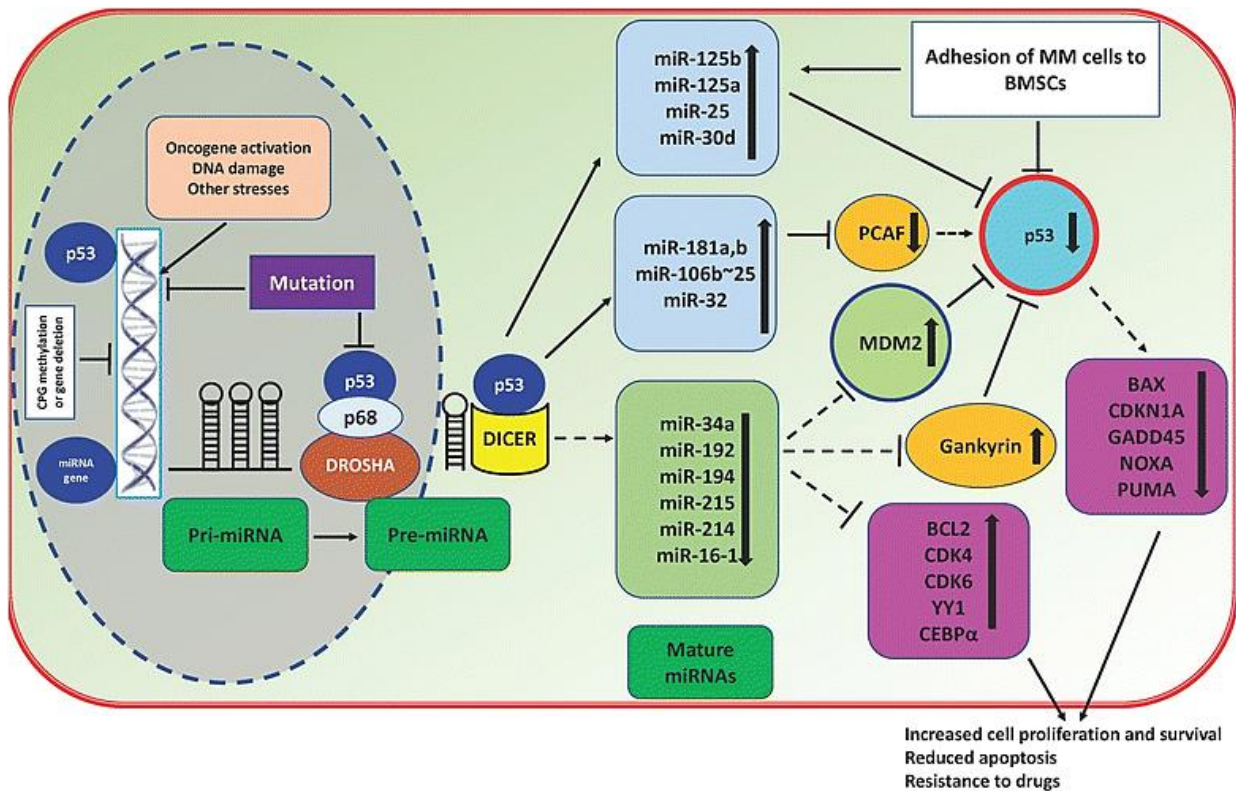


Figure 7 : Mécanisme d'interaction p53-miARN dans le myélome multiple (Jahangir *et al.*, 2017).

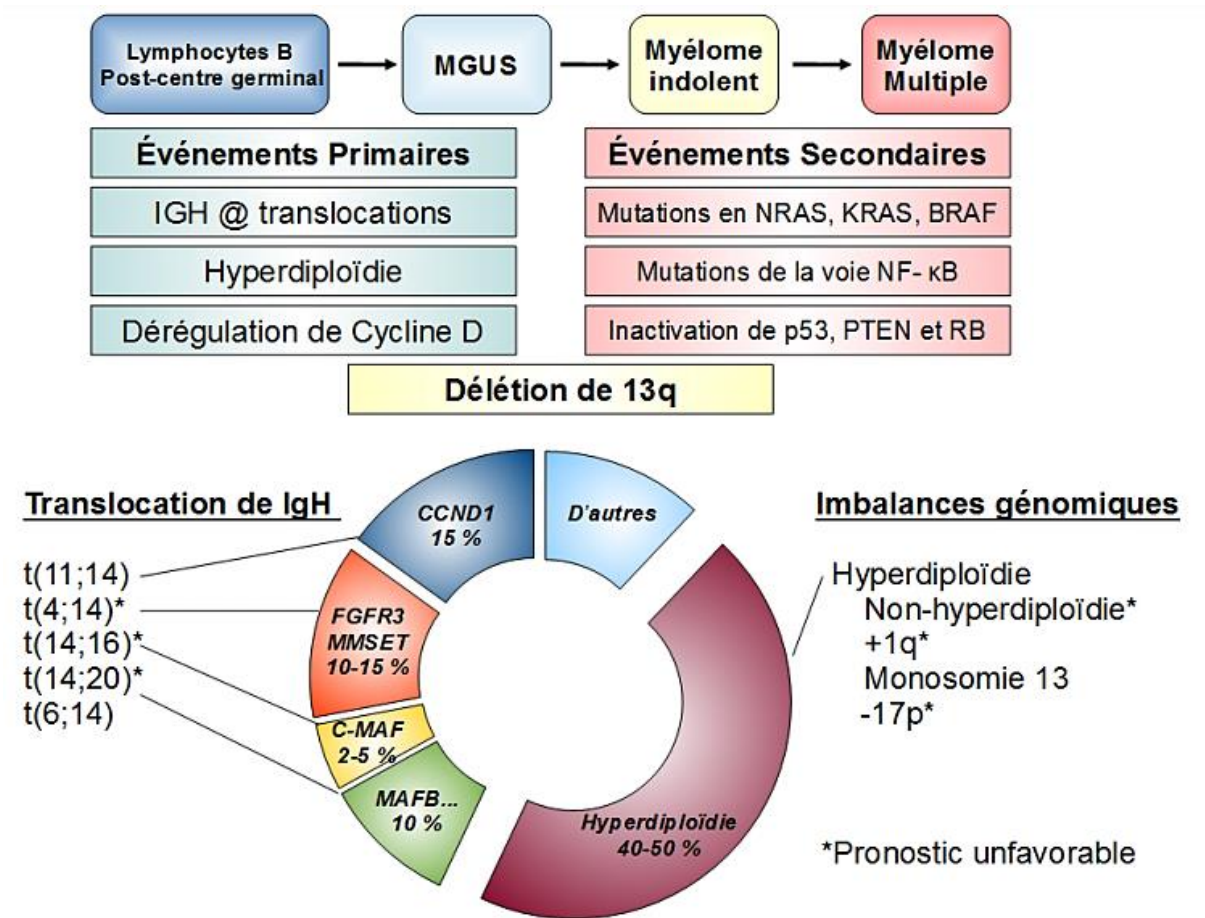


Figure 8 : Événements génétiques associés à l'évolution du myélome multiple (Korde et al., Blood, 2011, Bergsagel et al., Blood, 2013).

MGUS : Monoclonal Gammopathy of Undertermined Significance ; IGH: Immunoglobulin Heavy Chain ; NRAS: Neuroblastoma RAS Viral Oncogene Homolog ; KRAS: Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog ; BRAF: B-Raf Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase ; NFκB: Nuclear Factor Kappa B ; PTEN: Phosphatase And Tensin Homolog ; RB: Retinoblastoma 1 ; CCND1: Cyclin D1 ; FGFR3: Fibroblast Growth Factor Receptor 3 ; MMSET: Multiple Myeloma SET Domain-Containing Protein ; MAF: V-Maf Avian Musculoaponeurotic Fibrosarcoma Oncogene Homolog.

II. 1. 2. Interactions des clones plasmocytaires avec leur environnement

Au sein de la moelle osseuse un réseau complexe d'interactions cellulaires s'organise (**Figure 9**). Les cytokines produites par les cellules stromales, les ostéoclastes, les ostéoblastes, ainsi que par les cellules tumorales, sont directement impliquées dans la prolifération plasmocytaire. En outre, les interactions entre les plasmocytes tumoraux et les divers composants du microenvironnement médullaire sont médiées par des récepteurs de surface cellulaire (**Harousseau et Moreau, 2009**), tels que les intégrines, les cadhérines et les sélectines. Ces molécules d'adhésion cellulaire induisent la croissance, la prolifération, la migration, et l'adhésion des cellules plasmocytaires, ainsi que leur résistance aux médicaments (**Manier et al., 2016**).

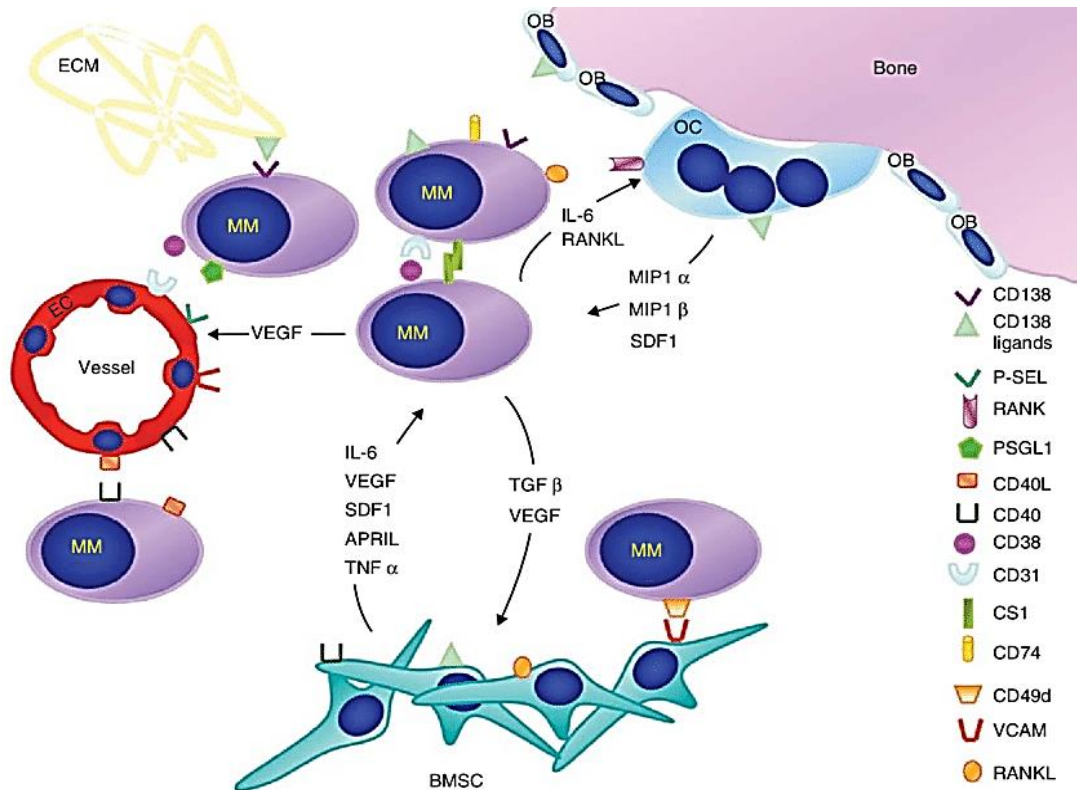


Figure 9 : Interactions entre les cellules du myélome multiple et leur microenvironnement (**Hideshima et al., 2007**).

La moelle osseuse (matrice extracellulaire (EC), cellules stromales BM (BMSC), cellules endothéliales, ostéoclastes (OC) et ostéoblastes (OB) sont médiées par les deux cytokines et La diaphonie cytokinique bidirectionnelle entre les cellules MM et les éléments cellulaires du micro-environnement BM stimule l'expression de molécules d'adhésion qui, à leur tour, par la liaison de leurs ligands, stimulent la production des cytokines.

Physiologiquement, l'IL-6 est le facteur de différenciation des LB en plasmocytes. Lors du myélome multiple cette IL-6 est synthétisé par les cellules stromales, les ostéoclastes et les ostéoblastes ainsi des cellules plasmocytaires elles-mêmes. L'IL-6 permet l'activation de plusieurs voies de signalisation impliquées dans la protection contre l'apoptose et dans l'induction de la prolifération. Le TNF α , l'IL-1b, le TGF β , le GDF-15 et le VEGF entrent aussi dans ces voies de signalisation. Les cellules tumorales prolifèrent donc en contact étroit avec les cellules du microenvironnement de la moelle osseuse, notamment avec les cellules souches mésenchymateuses (CSM). Le GDF 15, un facteur de croissance et de différenciation, est surexprimé par ces CSM. Il augmente significativement la survie des cellules myélomateuses. Il active, par phosphorylation d'Akt, la voie de signalisation PI-3K/Akt et permet la prolifération des cellules responsables de la maladie (**Figure 10**) (**Corre, 2015**).

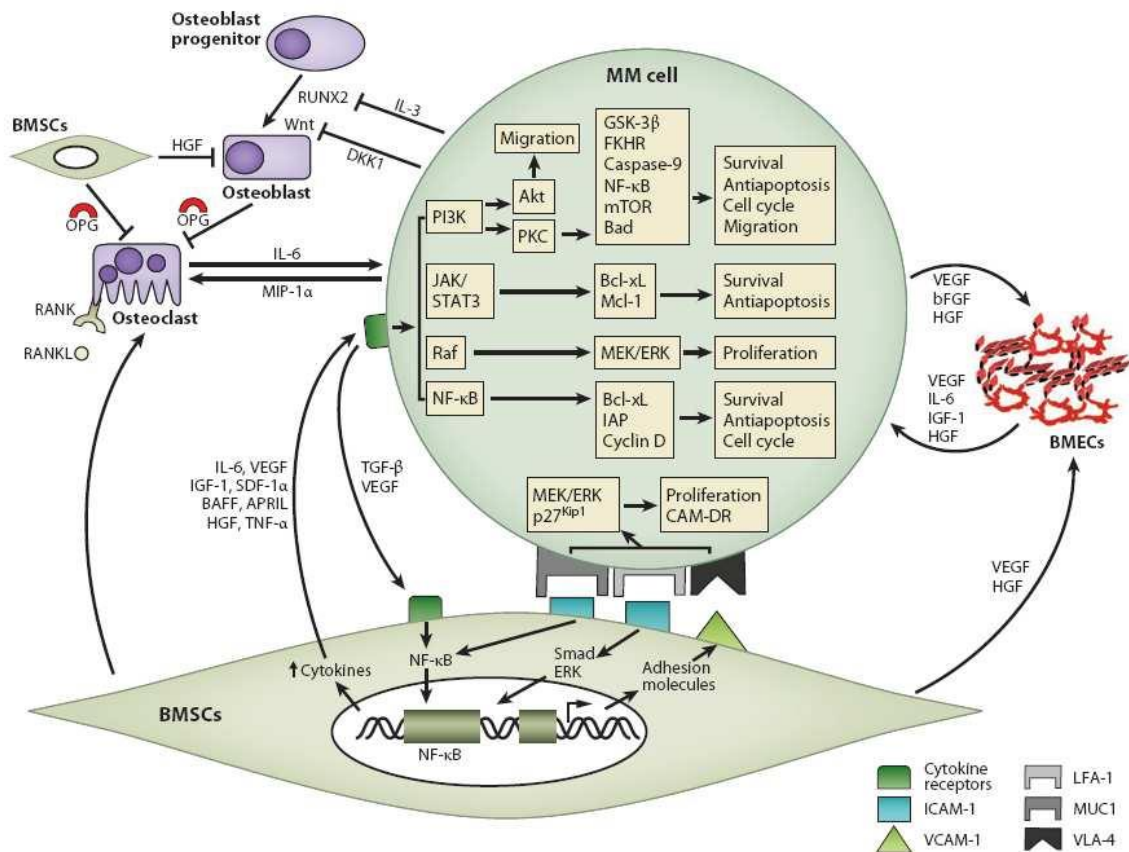


Figure 10 : Principales voies de signalisations de la cellule myélomateuse (**Kizaki et al., 2016**).

La survie et la prolifération des cellules de MM induites par les différents facteurs de croissance et cytokines passent par 4 voies de signalisation : la voie JAK/STAT, la voie

PI3K/Akt (**Figure 10**), la voie des MAPK et la voie NF- κ B (**Bruno et al ; 2005**). Chacune de ces voies est une cible thérapeutique potentielle.

L'IL-6 induit la synthèse du VEGF par les cellules tumorales mais aussi par les cellules stromales ; en retour, la stimulation par le VEGF entraîne la production d'IL-6. Le VEGF est important pour le maintien de la cellule tumorale et la croissance des métastases (**Kumar et al., 2003**).

II. 1. 3 Molécules de communication intercellulaire dans le Myélome Multiple

Il apparaît que certains gènes sont très nettement surexprimés dans les cellules de MM, comme ceux codant pour la cytokine HB-EGF (heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor), le récepteur oncogénique Tyro3, le récepteur FRZB ou encore Jagged2, un ligand des récepteurs Notch. La surexpression de ces gènes a été confirmée par RT-PCR et/ou analyse protéique (western blot, cytométrie en flux) et confirmée pour certains gènes sur des cellules primaires de myélome ou des plasmocytes normaux (**De Vos, 2001 ; Wang, 2002**).

II. 1. 4. Critères diagnostique du MM

En 2014, l'International Myeloma Working Group (IMWG) a mis à jour les critères de diagnostic pour MM (**Annexe 01**) (**Rajkumar et al., 2014**). La révision principale était d'ajouter 3 biomarqueurs très spécifiques (Plasmocytose $\geq 60\%$, Ratio des Chaînes légères libres (CLL) ≥ 100 , > 1 lésions focales sur Imagerie à résonance magnétique IRM à une (ou plusieurs) atteinte(s) organique(s) couramment désignées sous l'acronyme « CRAB », à savoir :

- **C** : Une hypercalcémie, supérieure à 2,75 mmol/l (soit 110 mg/l) ou supérieure à 0,25 mmol/l au-dessus de la limite supérieure normale,
- **R** : Une atteinte rénale, avec une créatininémie supérieure à 175 μ mol/l (soit 20 mg/l),
- **A** : Une anémie, avec un taux d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl ou plus de 2 g/dl en dessous de la limite inférieure normale.
- **B** : Des lésions osseuses (Bone), lésions lytiques ou ostéopénie sévère ou fractures pathologiques.

Le diagnostic de MM repose sur la présence d'une plasmocytose médullaire supérieure à 10 %, souvent dystrophique avec présence d'au moins un des critères CRAB), ce qui différencie le MM de la MGUS ou gammopathie monoclonale de signification indéterminée et du MM asymptomatique (**Rajkumar et al., 2014**).

II. 1. 5. Critères pronostics du Myélome Multiple :

➤ Classification de Durie et Salmon

L'importance de la masse tumorale a été l'un des premiers facteurs pronostiques identifié. En 1975, Durie et Salmon ont proposé une classification en 3 stades, basée sur la masse tumorale (**Annexe 03**) (**Durie et Salmon ; 1975**). Les trois stades d'évolution de la maladie numérotés de I à III, I étant le stade le moins évolué et III le stade le plus évolué. Différents paramètres étaient pris en compte, incluant l'isotype de la chaîne lourde, l'importance du taux de composant monoclonal (mesuré dans le sang et/ou les urines), le taux d'hémoglobine, l'étendue des lésions osseuses et la calcémie (**Lodé et al., 2005**). Le stade est complété d'une sous-classification basée sur la qualité du fonctionnement des reins, évaluée par le dosage de la créatinine dans le sang : le stade A ne présente pas d'atteinte de la fonction rénale, alors que le stade B : atteinte en présente.

➤ Classification internationale de valeur pronostique (ISS)

Permet de déterminer le degré d'agressivité de la maladie et ainsi d'en évaluer le pronostic. Elle est basée sur la mesure de deux protéines dans le sang : la bêta-2 microglobuline ($\beta 2M$), dont le taux peut refléter l'activité du myélome, et l'albumine, dont la production est inhibée par des substances produites par les plasmocytes anormaux. Le plus souvent, la décision de traiter le myélome est prise lorsqu'au moins un des signes cliniques ou biologiques décrits dans les critères CRAB est présent (**Annexe 02**).

➤ Classification cytogénétiques et moléculaires

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

Les principales anomalies cytogénétiques décrites dans le MM sont soit des anomalies de nombre (des hyperdiploïdies représentent environ 50 % des cas), soit des anomalies de structure (Les réarrangements de la bande 14q32 (IgH) sont identifiés dans 55 à 70 % des cas).

Les anomalies chromosomiques décrites précédemment présentent une grande valeur pronostique dans le MM.

II. 2. Conséquences clinico- biologiques et physiopathologie du myélome multiple

Les éléments cliniques qui caractérisent le MM peuvent être présents dès le diagnostic, ou apparaître au cours de l'évolution de la maladie. Différents symptômes généraux, non spécifiques mais habituels et précoces sont présents tels qu'une altération de l'état général. À côté de cela, le MM se manifeste par des symptômes plus spécifiques, notamment osseux et rénaux.

II. 2. 1. Atteinte osseuse

Les douleurs osseuses sont fréquemment révélatrices du MM, et concernent environ 70% des patients au moment du diagnostic. Elles sont localisées principalement au rachis et aux cotes, évocatrices quand elles sont diffuses (**Bouscary *et al.*, 2003**). Elles résultent d'une augmentation de l'activité ostéoclastique au contact des plasmocytes. En effet, ces derniers stimulent la sécrétion de cytokines activatrices des ostéoclastes, telles que les interleukines (IL) : IL-6, l'IL-1, le TNF- β , ou encore les MIP-1a, MIP-1b (macrophages Protein Inflammatoire) aboutissant à une augmentation de la résorption osseuse avec ostéolyse diffuse ou multifocale. De plus, il existe une dérégulation du système RANK-RANK-L (Receptor Activator of Nuclear Factor-k-) et ostéoprotégérine (système essentiel dans l'activation et la différenciation des ostéoclastes) (**Sfiridaki *et al.*, 2011**) . L'activation du récepteur RANK induit la maturation et l'activation des ostéoclastes et provoque une résorption osseuse contribuant à l'apparition de l'ostéoporos (**Figure 11**).

L'ostéoprotégérine OPG, également sécrétée par les ostéoblastes, est une protéine soluble qui joue le rôle de récepteur-piège pour le RANK-L (c'est- à dire que RANKL se fixe à OPG et est ainsi neutralisé) (**Sfiridaki *et al.*, 2011**).

Enfin, les signaux de formation osseuse sont bloqués, avec une inhibition de Runx2/cbfa1 et une production excessive de Dkk1 par les cellules myélomateuses, conduisant à une inhibition des ostéoblastes, et un échec de la réparation osseuse (Roux, 2016).

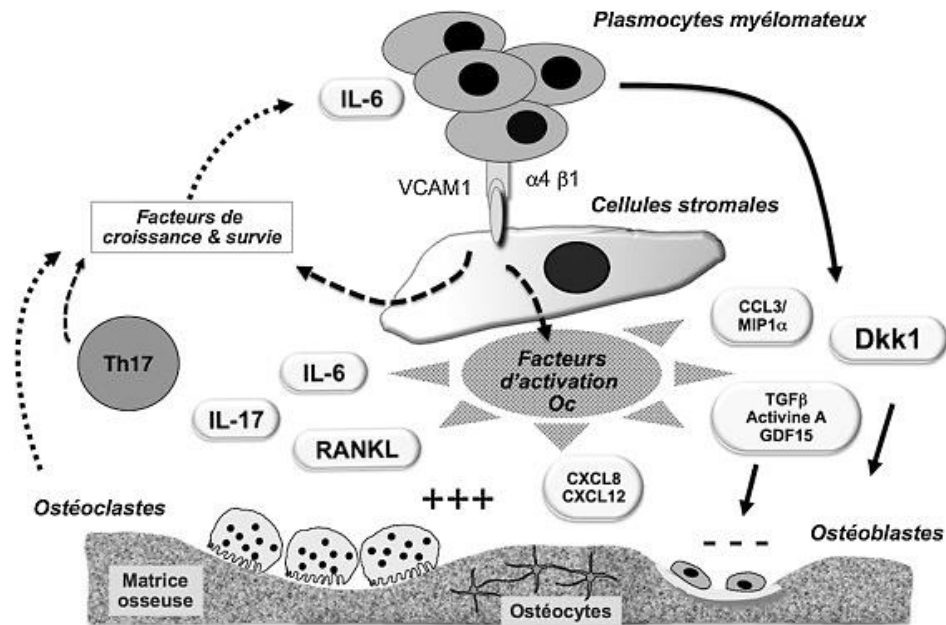


Figure 11 : Mécanismes de l'ostéolyse du myélome.

(Roux, 2016).

II. 2. 2. Atteinte rénale

Au moins 20 % des personnes atteintes d'un myélome sont, dans une certaine mesure, également atteintes d'une maladie rénale au moment du diagnostic. Jusqu'à 50 % développent une maladie rénale à un certain moment après le diagnostic d'un myélome. Il est important de comprendre pourquoi le myélome augmente les risques de maladie rénale. Une maladie rénale associée au myélome survient pour diverses raisons : Protéine anormale produite par les cellules myélomateuses bloque les tubules, complications du myélome, comme la déshydratation ou un taux élevé de calcium (hypercalcémie), certains médicaments utilisés dans le traitement du myélome peuvent être associés au développement d'une maladie rénale associée au myélome (Myélome Multiple Canada, 2017).

Les atteintes rénales sont fréquentes au cours des proliférations plasmocytaires et lymphoplasmocytaires. Elles résultent le plus souvent de la précipitation ou du dépôt tissulaire d'une immunoglobuline monoclonale complète ou d'une chaîne monoclonale isolée, légère ou lourde. On distingue deux catégories d'atteintes, en fonction des données de la biopsie rénale, et notamment de la nature, de la localisation et du caractère organisé ou non des dépôts ou inclusions d'Ig en microscopie électronique (ME) (**Preud'homme et al., 1994**).

Chez environ 15 à 20 % des patients, les cellules myélomateuses ne produisent que des chaînes légères (parfois appelées protéines de Bence-Jones) et aucune immunoglobuline entière. Ce type de myélome est dit « à chaînes légères » ou « de Bence-Jones ». Une quantité excessive de chaînes légères dans le sang peut compromettre les reins. Quand elles pénètrent dans les reins, les chaînes légères sont suffisamment petites pour passer à travers les glomérules et pénétrer dans les tubules. À l'intérieur des tubules, elles peuvent se lier à une autre protéine appelée protéine de Tamm-Horsfall. Les chaînes légères produiront alors des protéines trop grosses pour passer dans l'urine. Les protéines de Tamm-Horsfall peuvent bloquer le tubule et entraîner de graves lésions rénales. En plus de bloquer les tubules, les chaînes légères représentent également un élément toxique direct pour les reins pouvant causer une inflammation et entraîner une perte de la fonction rénale (**Myélome Multiple Canada, 2017**).

Le groupe des néphropathies à dépôts organisés d'Ig monoclonales comprend des atteintes tubulaires et glomérulaires. Les néphropathies tubulaires, liées à la précipitation intratubulaire ou intracellulaire de CL monoclonales formant souvent des cristaux, sont représentées par la néphropathie à cylindres myélomateux (NCM) et le syndrome de Fanconi (SF). Les atteintes glomérulaires sont caractérisées par des dépôts organisés soit en fibrilles (amylose immunoglobulinique à CL et exceptionnellement à chaîne lourde), soit en microtubules (glomérulopathies à dépôts microtubulaires d'Ig monoclonales et glomérulonéphrites des cryoglobulinémies de type I et II).

La **NCM** ou Tubulopathie Myélomateuse est la plus fréquente des complications rénales du myélome. Elle est liée à la précipitation intratubulaire de chaînes légères d'immunoglobuline monoclonale (sans surreprésentation d'un isotype particulier de chaîne légère). Elle s'observe plus souvent au cours des myélomes à chaînes légères et des myélomes à IgD (**Moulin et Peraldi, 2016**).

➤ Dans le tubule proximal

Les concentrations très élevées de (FLCs) présentes dans l'ultrafiltrat de patients atteints de myélome multiple peuvent entraîner une lésion directe des CPTs. L'endocytose excessive des CLFs par le complexe cubilin-mégalin exprimé sur les CPTs peut déclencher des voies apoptotiques, pro-inflammatoires et fibrotiques qui conduisent à la fibrose tubulo-interstitielle, une caractéristique majeure du rein du myélome. L'activation des voies redox se produit, avec une expression accrue de NFκB et de MAPK, qui à son tour conduit à la transcription des cytokines à la fois inflammatoires et profibrotiques, telles que IL-6, IL-8, CCL2 et TGF-β1 (Hutchison et al.2012).

➤ Dans les tubules distaux

Les CLFs à partir leurs domaine de liaison CDR3 peuvent se lier à un domaine de liaison spécifique sur les protéines **Tamm-Horsfall** (THPs aussi appelée uromoduline) (**Figure12**) composé de neuf acides aminés, appelé LCBD et co-précipiter pour former des fontes. Ces fontes peuvent bloquer le flux glomérulaire et produire une atrophie tubulaire proximale et conduisent à une inflammation interstitielle progressive et à une fibrose (Hutchison et al, 2012).

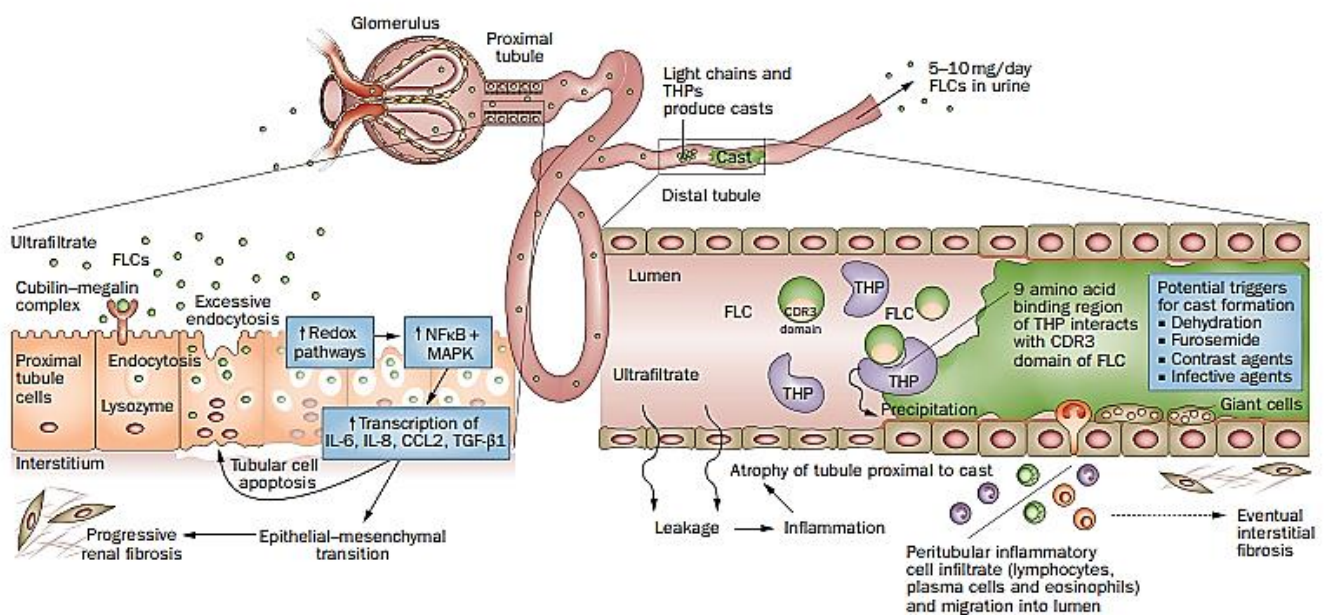


Figure 12 : Schéma représente les Mécanismes de lésion rénale aiguë induite par (FLCs) au cours du myélome multiple (Hutchison et al, 2012).

III. Traitements médicamenteux

Le traitement du myélome est basé sur une association de plusieurs médicaments, que l'on appelle schéma ou protocole de traitement (un agent alkylant, une molécule de thérapie ciblée et un corticoïde) (Jacopin, 2015).

Exemple de thérapie ciblée actuellement utilisée dans le traitement du myélome :

- les inhibiteurs du protéasome tel le bortezomib. Le protéasome intervient dans le cycle de vie des protéines de la cellule. Lorsque ce cycle est bloqué par l'action du bortezomib, les fonctions de la cellule sont altérées et elle meurt.

L'inhibition du protéasome réduit la prolifération, altère les mécanismes de survie des cellules malignes en bloquant la progression des cellules dans le cycle et met en apoptose des cellules myélomateuses en régulant négativement l'expression d'inhibiteurs d'apoptose (Figure 13).

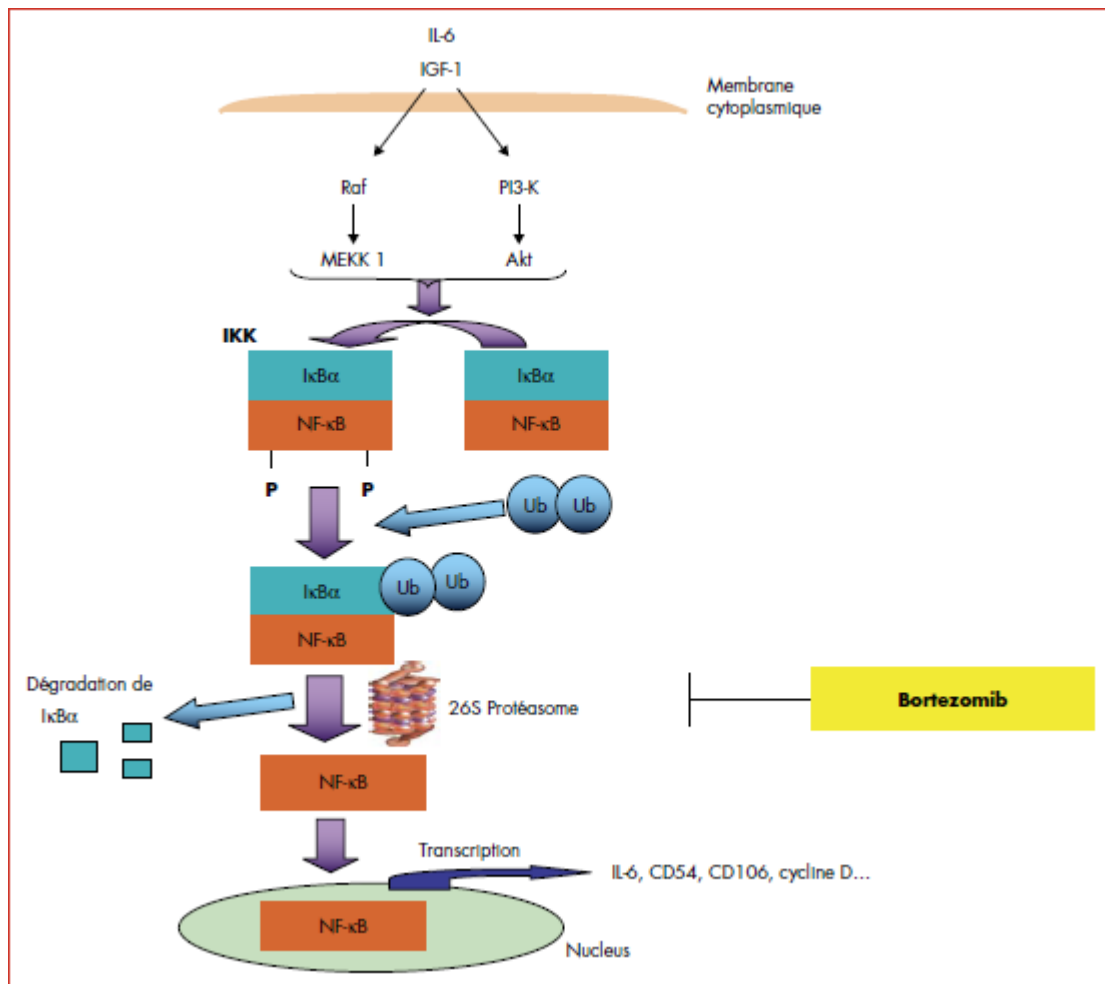


Figure 13 : Inhibition du complexe NF-κB par bortezomib

(Pasquier et al., 2006).

Chapitre 99: Matériel & Méthodes

Au cours de notre travail, nous nous sommes intéressés à la réalisation d'une étude rétrospective, prospective et descriptive ayant pour but d'effectuer une étude épidémiologiques, biologiques et cliniques, d'une série de 39 malades atteints de myélome multiple et de déterminer l'isotype le plus fréquent dans la population étudiée. Nous avons aussi évalué les marqueurs pronostiques tels que la β_2m , l'albumine et un marqueur de diagnostic qui est la protéine de Bence Jones « PBJ » dans les atteintes rénales associées avec MM.

I. Patients

Notre étude rétrospective et analytique étalée sur 2 ans de janvier à décembre 2016-2017 et prospective du mois de janvier jusqu'à mois de mai 2018 (9 cas), a été réalisée au sein du service d'Immunologie Médicale du CHU « Beni-Messous ». La population étudiée était composée de 39 sujets (recrutés entra 2016 et 2018) souffrant du myélome multiple avec une atteinte rénale, dont l'âge variait entre 32 et 81 ans. Tous ont présenté un ou plusieurs signes CRAB (hypercalcémie, insuffisance rénale, anémie et lésions osseuses) avec une plasmocytose médullaire supérieure à 10%. Nous avons retenu une atteinte rénale au cours du myélome multiple lorsqu'il existait une protéinurie $\geq 0,5g/24h$ persistante contrôlée à 2 reprises associées ou non à un sédiment urinaire actif, plus un déséquilibre de rapport RFLC entre « 0.26-1.65 » sans insuffisance rénale et « 0.37-3.1 » avec l'insuffisance rénale. Les paramètres ayant été pris en considération sont :

- Les données épidémiologiques :
 - Âge.
 - Sexe.
- Les données cliniques :
 - Répartition des patients selon les signes cliniques.
 - Les antécédents personnels.
- Les données des techniques biologiques utilisées :
 - L'électrophorèse des protéines sériques et urinaire.
 - L'immunofixation sanguine.
 - Néphélométrie de laser.

- Classification pronostique.

II. Matériel

II. 1. Matériel biologique

➤ **Sérum**

Du sang veineux est prélevé chez des patients à jeun. Il est recueilli sur un tube à vis et le sérum est récupéré après une décantation pendant 2 à 3 h et une centrifugation à 4500 tours/min pendant 7 minutes.

➤ **Urine**

Les analyses sont effectuées sur les urines de 24h, récoltées dans un récipient stérile, après centrifugation 3000 tours/min pendant 5 minutes.

II. 2. Matériel non biologique

Au cours de ce travail, nous avons utilisé du matériel, et des réactifs utilisés. Ils sont résumés dans (**Annexe 07**).

III. MÉTHODES

Pour chaque patient adressé au service d'immunologie (unité d'immunochimie), un bilan immunochimique est réalisé. Les prélèvements sont effectués au laboratoire. Il s'agit du bilan suivant :

- Une électrophorèse des protides (EPP) sériques (V8 Helena) et urinaires(SAS3).
- Le dosage des protéines sériques et urinaires respectivement par la méthode de Biuret et rouge de pyrrogalol et l'absorbance est lu en utilisant le spectrophotomètre Microlab 300.
- Une immunofixation (IF) sérique et urinaire : Identification du composant monoclonal et de la protéine de Bence Jones (urinaire), à l'aide de SAS3 et SAS4.
- Un dosage pondéral des Ig (**G, A, M**) par immuno-néphélométrie (BN100, Behring). Nous n'avons pas procédé au calcul du taux de l'Ig monoclonale à partir du tracé électro-phorétique. Les résultats rapportés correspondent en fait au cumul des taux de l'Ig polyvalentes de même classe dosée par néphélométrie.

Toutes L'appareillage utilisé au cours de notre étude est dans **Annexe 05**.

III. 1. Dosage des protéines

III. 1. 1. Taux de protides sériques (méthode de Biuret)

La protidémie désigne la concentration de protéines dans le sang. Ces protéines sont représentées par l'albumine et les différentes globulines (alpha, bêta et les gammaglobulines).

✓ Principe

La protéine présente dans l'échantillon réagit avec les ions de cuivre (II) en milieu alcalin, pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie.

✓ Mode opératoire

A l'aide d'une micropipette, nous avons prélevé pour chaque tube d'essai 1ml de réactif et 2 μ l d'eau distillé (premier tube), d'étalon (deuxième tube) et de nos échantillons (**Figure 14**).



Figure 14 : Dosage de taux des protides.

III. 1. 2. Électrophorèse des protéines sériques (EPP)

L'électrophorèse en milieu liquide est réalisée par une technique automatisée utilisant l'automate de l'électrophorèse capillaire (**V8 ®, Helena**).

✓ Principe

L'électrophorèse capillaire est une technique quantitative d'analyse et de fractionnement des protéines sériques (albumine et globulines α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , γ) basée sur la migration des protéines dans un champ électrique selon leur charge et leur poids moléculaire. Les protéines traversent le capillaire en silice chargé négativement et rempli de tampon avec un niveau de pH supérieur au point isoélectrique des protéines. La charge positive de ce dernier crée un

courant d'électroendosmose plus puissant que le champ électrique. Ainsi, les protéines du sérum migrent vers la cathode (**Figure 15**).

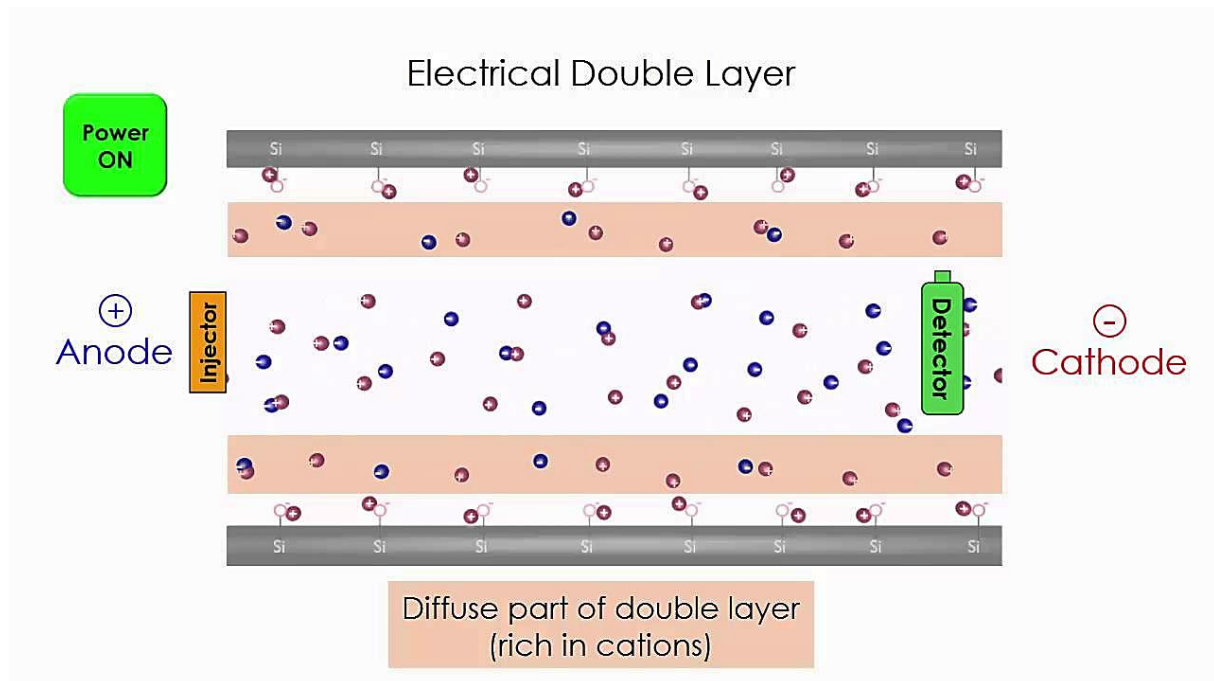


Figure 15 : Principe de l'électrophorèse capillaire.

Les protéines sont détectées directement en balayant à **200 nm** et un profil électrophorétique à 6 pics correspondant à l'albumine et les globulines **$\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$, γ** qui apparaît sur l'écran du système. La surface de chaque pic est intégrée : les résultats sont donc obtenus en pourcentage de la surface totale et en concentration (**g/l**) à partir du taux de protéines totales sériques (**Figure16**).

✓ **Mode opératoire**

La première étape à suivre est le classement des tubes contenant le sérum des patients dans le portoir d'échantillon selon les chiffres à l'extérieur du tube sec, après avoir allumé la V8 et l'élimination des déchets solides et liquides de leurs réservoirs respectifs, mettre en disposition de l'appareil le tampon de stockage, de maintenance et des cupules jetables. En suit la déposition de diluant en position 2. Le chargement des portoirs échantillons et démarrage de l'analyse des échantillons est automatique par le V8. Les résultats sont transmis à Platinum 4. A la fin de l'analyse l'initiation de mode d'arrêt de V8.

III. 2. Électrophorèse des protéines sériques sur gel (IEPP)

Le kit SAS-3 Protéines sériques SB est utilisé pour la séparation et la quantification des protéines sériques par électrophorèse en gel d'agarose en 6 fractions principales (albumine, alpha 1, alpha 2, beta 1, beta 2 et gammaglobulines) selon leur charge en gel d'agarose. Les protéines sont ensuite colorées afin de permettre leur visualisation et l'interprétation quantitative. Chaque fraction, à l'exception de l'albumine, contient au moins 2 composants (Figure 16).

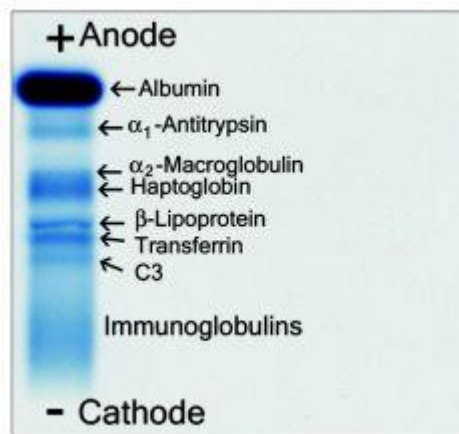


Figure 16 : Principe de l'électrophorèse des protéines sériques en gel d'agarose.

✓ Mode opératoire

- **Étape 1** : Placer les cupules jetables sur le porte échantillon, Pipeter 35ul d'échantillon dans les puits correspondants du porte échantillon, Mettre en place le porte échantillon avec précaution à l'aide des ergots de guidage de l'embrase, s'assurer qu'il est solidement mis en place, Placer le guide d'alignement sur les picots et déposer 400 µl de REP-prep au centre de la chambre.

Étape 2 : Sortir le gel de son emballage, sécher la surface du gel à l'aide d'un buvard C (la surface rugueuse vers le bas), 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, Fixer les électrodes sur les plots de telle sorte qu'elles soient en contact avec les ponts d'agarose, Mettre en place 2 applicateurs dans l'instrument (encoches A et 10).

NB : les gels suppriment les courants de convection produits par les faibles gradients de température, ce qui autorise une séparation plus efficace.

- **Étape 3 :** Réaliser l'électrophorèse, sélectionner le programme : utilisateur, Une fois l'électrophorèse terminée, fixer le gel sur le support de la chambre de coloration SAS-4 comme décrits dans Annexe. Lorsque la coloration est terminée, enlever le gel du support de la chambre de coloration, il est prêt alors pour être examiné.

Une lecture visuelle des plaques permet de déterminer si les bandes d'une protéine spécifique sont présentes ou non. L'image scannée de la membrane sera convertie en un profil électrophorétique grâce à un programme lié au V8 (automate d'électrophorèse), la quantification relative de chaque fraction est obtenue à partir de la concentration totale des protéines sériques.

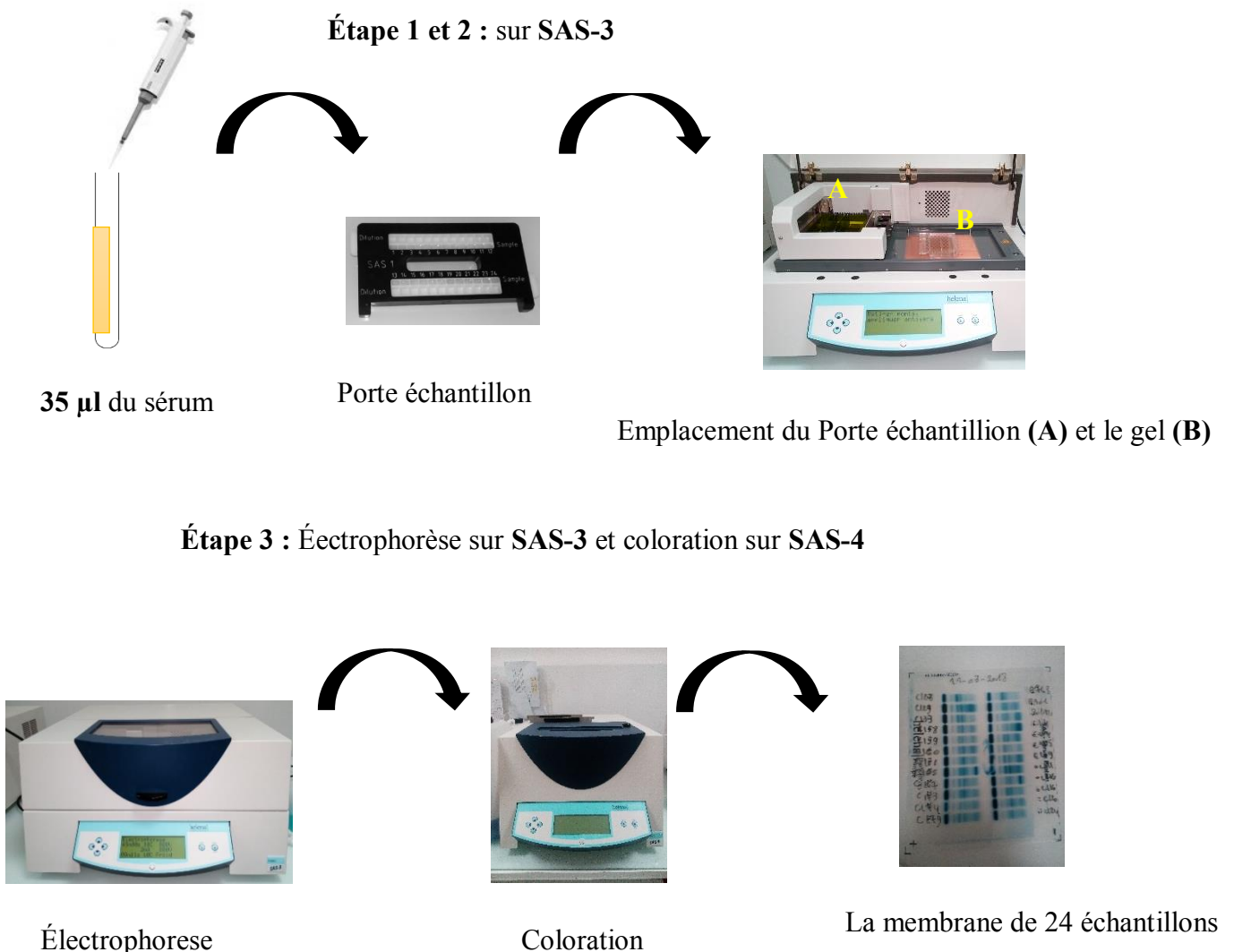


Figure 17 : Schéma présentatif d'électrophorèse des protéines sérique sur SAS-3-.

III. 3. Immunofixation

✓ Principe

L'immunofixation est une technique qualitative immunochimique d'identification sensible, qui permet la visualisation des différents clones d'immunoglobulines monoclonales (IgG, IgA, IgM, et chaînes légères kappa et lambda) sériques ou urinaires. Les protéines sériques sont séparées selon leur charge en gel d'agarose. Les protéines sont ensuite mises en contact avec un antiserum mono spécifique, lavées et colorées pour permettre la visualisation de l'immunoprécipité en vue d'une interprétation qualitative.

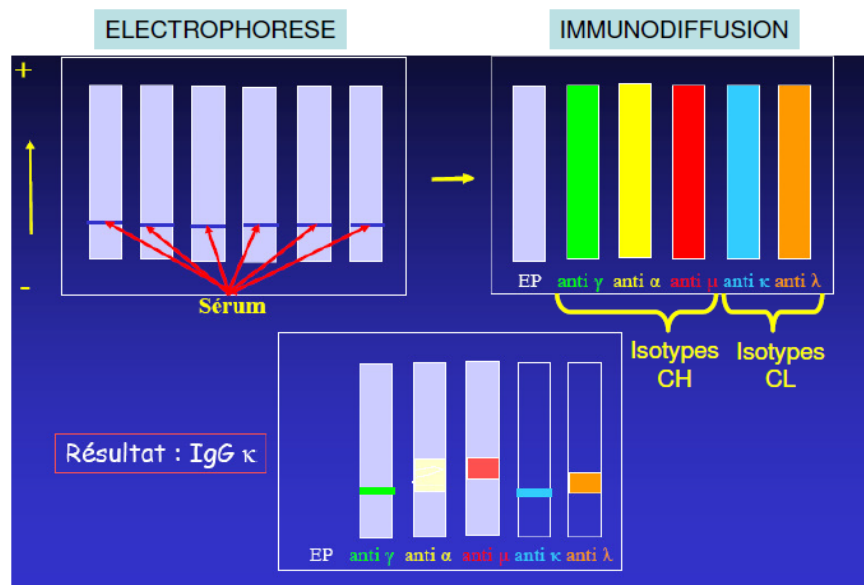


Figure 18 : Principe d'immunofixation (IF).

Le gel est composé de six pistes différentes. La première piste sert de référence grâce à la précipitation de toutes les protéines (SP). Les cinq autres pistes permettent de caractériser les bandes monoclonales grâce à des Ac spécifiques anti-chaînes lourdes (G, A, M) et anti-chaînes légères kappa (K) et lambda (L). Occasionnellement, d'autres anticorps monospécifiques sont utilisés : D pour IgD et E pour IgE, afin de mettre en évidence une bande monoclonale de type IgD ou IgE. Des anticorps anti-chaînes légères libres sont également nécessaires à la mise en évidence d'une chaîne légère libre monoclonale dans les myélomes à chaînes légères.

✓ Mode opératoire

- **Étape 1** : L'utilisation de sérum fraîchement prélevés est fortement recommandée. Les échantillons peuvent être conservés 4 jour à 15°C, semaines à 6°C ou 6 mois à -20°C , Après

le prélèvement de sérums, effectuer des dilutions selon un tableau prédéfini (**Annexe 8**), Déposer 35 µl d'échantillon dans les cupules jetables, placer sur le porte échantillon, et mettre en place le porte échantillon à l'endroit dédié à cet effet sur l'instrument (SAS-3).

- **Étape 2** : Déposer 2 ml de REP-prep au centre de la chambre, puis fixer le gel préalablement séché et placer les électrodes sur les ponts d'agarose en respectant les polarités. En suit mettre en place 2 applicateurs dans l'instrument et faire migrer pendant 7 minutes. A la fin de l'EPP, retirer les électrodes et racler le gel de ces derniers, puis placer le masque applicateur antisérum sur le gel d'agarose, en suit déposer 50 µl d'antisérum (SP, G, A, M, K, L) dans les cases supérieures pour tous les échantillons et les SP, après incuber le gel pendant 10 mn, et à la fin, déposer un buvard peigne (mèches), laisser 2 min afin que l'excès d'antisérum soit absorbé puis retirer les mèches ainsi que le masque.

- **Étape 3** : Déposer le buvard D sur le gel et repositionner le masque applicateur par-dessus. Enfin, laisser le buvard pendant 5 min, puis retirer le gel et le sécher pendant encore 5 mn. Fixer le gel sur le portoir de coloration (SAS4), en suit sélectionner le programme IFE sur le module de coloration et suivre les étapes : coloration par le violet acide, décoloration puis séchage (en deux fois), A la fin du cycle de coloration, sortir le gel de la chambre de coloration. Il est prêt pour être examiné.

✓ **Mode opératoire de l'immunofixation urinaire**

L'immunofixation urinaire est recommandée pour la détermination de l'isotype de la protéine de Bence Jones et/ou du composant monoclonal entier. Le protocole suivi pour la réalisation de l'immunofixation urinaire est le même que celui de l'immuofixation sérique avec l'utilisation des antisérums : anti-chaînes légères kappa/lambda libres et anti GAM. Le prélèvement des urines de 24 heures s'effectue dans un flacon contenant un conservateur.

III. 4. Néphélométrie à rayon laser

C'est une technique quantitative, Elle est utilisée pour mesurer les concentrations de protéines sériques par immunoprécipitation : le sérum dilué est mis en présence d'un antisérum spécifique et le complexe antigène-anticorps antiprotéine précipite sous forme de fines particules permettant une analyse néphélométrique, Cette technique consiste à mesurer l'intensité d'un rayonnement laser diffusé à travers un échantillon pour le relier à une concentration.

✓ Principe

Elle repose essentiellement sur la diffusion de la lumière par des particules de polystyrène enrobées d'anticorps spécifiques anti- $\beta 2m$ / anti-CRP humaines qui sont mélangées avec des échantillons contenant de la $\beta 2m$ / CRP humaine pour former des complexes **Ag-Ac** insolubles. L'intensité du faisceau de lumière diffractée est proportionnelle à la concentration de ces complexes. Dans le cas où la concentration d'Ac est toujours supérieure à celle des Ag, le signal lumineux diffusé est proportionnel à la concentration d'Ag (protéine à doser). Les concentrations sont calculées automatiquement à partir de courbes établies préalablement après des dilutions systématiques de l'échantillon, et enregistrées sur la carte de calibration (Figure 30).

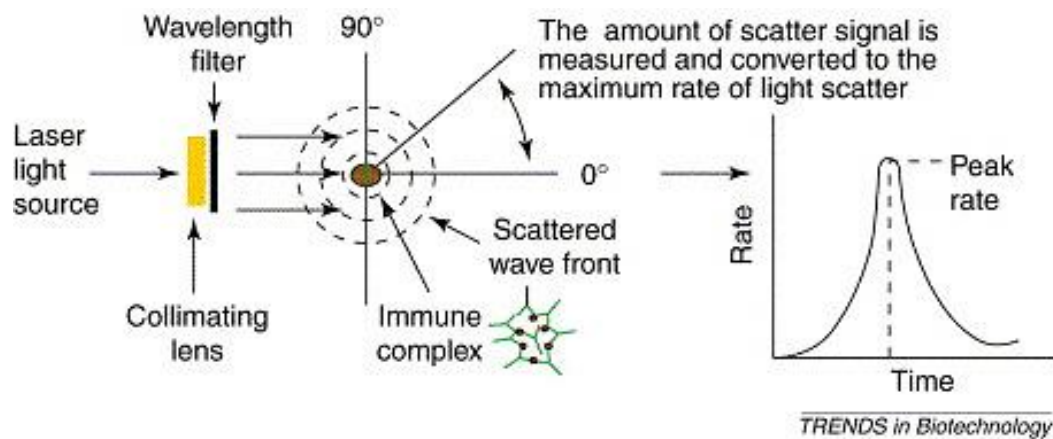


Figure 19 : Principe de néphélométrie Laser.

Les intervalles de référence utilisés sont les suivants :

$\beta 2m$: (1.1 – 2.4 mg/L).

IV. Étude statistique

Nous avons procédé au recrutement des malades à partir du registre de service d'immunologie médicale de CHU « Beni Messous » d'Alger, suivis pour l'atteinte rénale au cours de Myélome Multiple. Pour chaque patient, une analyse du dossier médical est effectuée pour recueillir les caractéristiques épidémiologiques, cliniques et biologiques des malades et les éléments du diagnostic.

Sur le plan statistique, les différentes caractéristiques ont été comparées par des histogrammes, des cercles polaires et des analyses de corrélation. Nous avons effectué une analyse descriptive des caractéristiques épidémiologique, cliniques, biologiques,

thérapeutiques et évolutives des patients. Pour les variables quantitatives nous avons calculé les moyennes et écarts-type, minimum et maximum et le pourcentage pour les variables qualitatives.

Des corrélations entre les différents paramètres mesurés ont été vérifiées avec le coefficient de corrélation des rangs de Spearman (Test non paramétrique), après avoir confirmé que notre population (n=39) ne suit pas la loi normale grâce au test de Shapiro Wilk. Les valeurs de $P < 0,05$ ont été considérées comme étant statistiquement significatives. En utilisant le logiciel GraphPad Prism 7, nous avons établi des corrélations entre la concentration de l'albumine (g/L) et celle de la $\beta 2m$ (mg/L).

Nous avons utilisé le Compare 2 Version 3.85, afin de rechercher des associations entre les différents signes clinico-biologiques et le taux des marqueurs pronostiques « Albumine et $\beta 2m$ », et des associations entre l'albumine et la PBJ. Il existe une association si la valeur de $P < 0.001$ (test de Fisher).

*Chapitre 999 : Résultats &
Discussions*

Nous avons réalisé une étude rétrospective et prospective descriptive, concernant les myélomes multiples avec atteinte rénale, dont les résultats de plusieurs paramètres ont été étudiés, selon une démarche bien établie. Durant une période de deux ans et demi (de 2016 à mai 2018), 39 cas ont été colligés soit en moyenne de 15 cas par an.

I. Aspects épidémiologiques de la population étudiée

De manière à mieux cerner les caractéristiques de notre population, nous avons d'abord traité son aspect épidémiologique en prenant compte deux principaux paramètres à savoir, l'âge et le sexe.

I. 1. Répartition des patients selon le sexe

La répartition de notre série de 39 patients en fonction du sexe a révélé que 21 cas, soit 54% étaient de sexe masculin alors que 18 cas, soit 46% étaient de sexe féminin, avec un sexe ratio H/F globale de 1.16. Nous avons donc noté une légère prédominance masculine. Nos résultats sont représentés dans la **figure 20** ci-dessous :

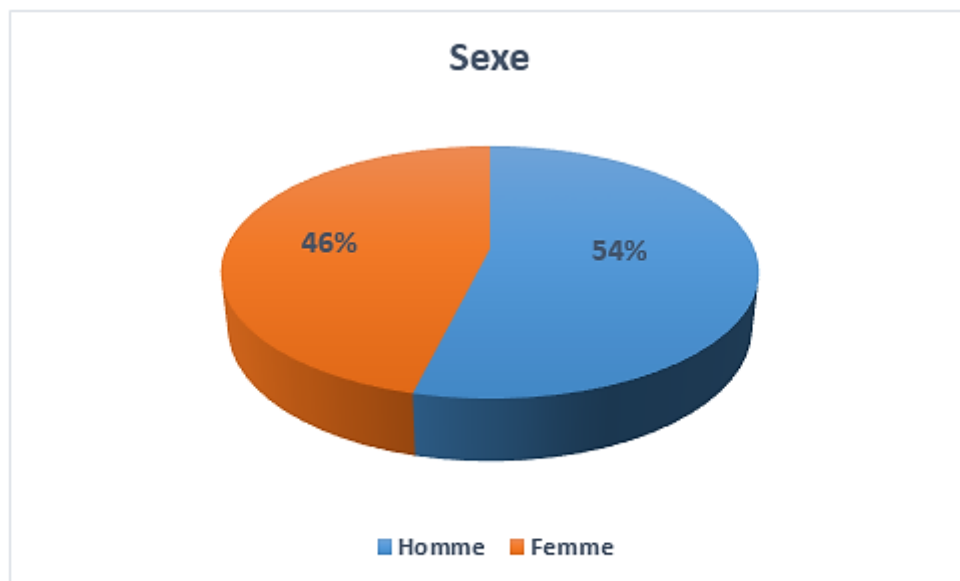


Figure 20 : Répartition des patients en fonction du sexe.

Sur le plan épidémiologique, des études ont montré que le MM est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes, tel que c'est rapporté dans l'étude de **Bouterfas (2014)** où une prédominance masculine avec un sexe ratio (H/F) de 3,6 a été observée pour un total de 23 patients. Des résultats similaires ont été retrouvés dans l'étude de **Abdoulkarim Omar et al. (2017)** au Maroc et celle de **Alexander et al. (2007)** en France.

De façon générale, les hommes sont plus souvent atteints que les femmes à cause de leur exposition, plus fréquente, à des produits chimiques tels que les pesticides et le tabac, considérés comme les principaux facteurs de risques (Manier et Leleu, 2011 ; Bouatay et al., 2012).

I. 2. Répartition des patients selon les différentes tranches l'âge

La moyenne d'âge de notre population était de $64,49 \pm 11,42$ ans avec des extrêmes allant de 32 à 81 ans, répartis en 6 tranches d'âge. Ces résultats révèlent que la majorité des patients, soit 97,41%, étaient âgés de 40 ans et plus dont la majorité concernaient la tranche d'âge [70–80 ans] (35,89%), alors que le pourcentage des personnes qui n'ont pas encore atteint la quarantaine était de 2,56% (Figure 21).

Le MM est observé près de la soixantaine, dans les publications africaines (Fall et al., 2017).

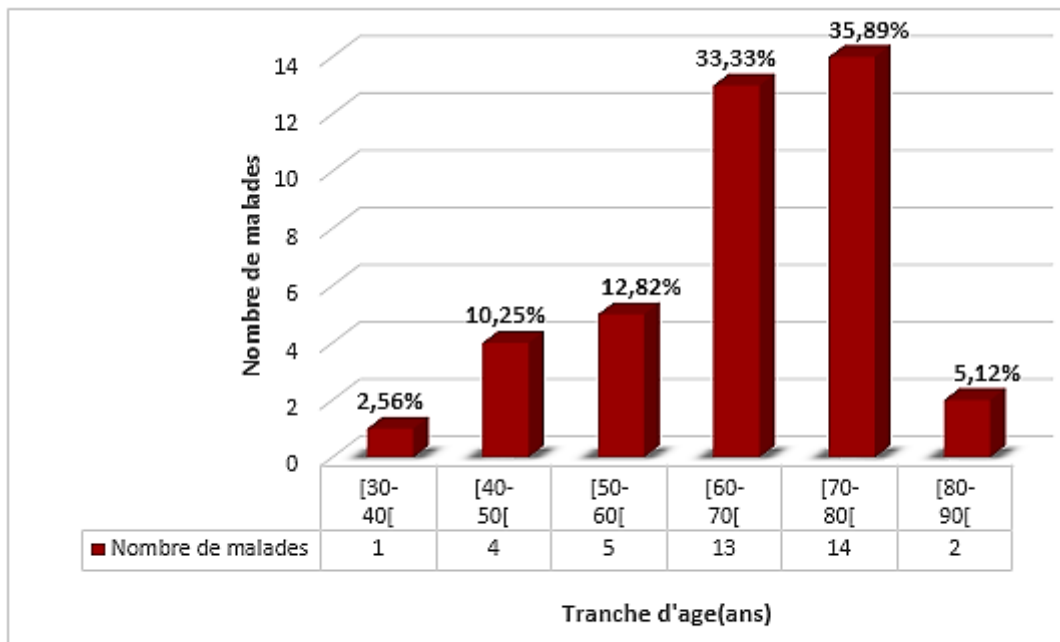


Figure 21 : Histogramme représentant la répartition des patients selon l'âge (année).

L'âge moyen dans notre étude est quasi similaire à celui rapporté à Sidi Bel Abbés (Bouterfas, 2014) et au Maroc (Azrouf, 2016). L'incidence du MM augmente rapidement avec l'âge et son impact en termes de santé public augmentera dans les années à venir du fait du vieillissement des populations. La survenue chez les adolescents et les jeunes adultes reste exceptionnelle (Manier et Leleu, 2011).

II. Manifestations cliniques de la population étudiée

Plusieurs manifestations clinico-biologiques ont été enregistrées au sein de notre population, les insuffisances rénales étaient les plus fréquentes (82,05%), suivies par l'anémie (56,41%). Nous avons également noté des douleurs osseuses chez 33,33 % des cas. Enfin, l'hypercalcémie fut constatée chez 10,25 % cas. Les principales manifestations clinico-biologiques de notre cohorte sont représentées dans le **tableau I** ci-dessous :

Tableau I : Fréquence des principales caractéristiques clinico-biologiques.

Signe clinique / biologique	Nombre de patients	Fréquence%
Anémie	22	56,41
Hypercalcémie	4	10,25
Douleurs osseuses	13	33,33
Insuffisance rénale	32	82,05

Les circonstances de découverte du MM varient d'un sujet à un autre traduisant une hétérogénéité clinique. Dans notre série, il s'agissait plutôt d'une insuffisance rénale décrite chez 32 patients (82,05%).

Nos résultats rejoignent les données de la littérature tel que rapporté dans une étude française où l'insuffisance rénale étaient plus fréquente (56 % des cas) (**Jourde-chiche et al., 2010**).

Les insuffisances rénales sont générées souvent par les lésions tubulaires (tube proximale), ainsi que l'obstruction intra tubulaire due à la précipitation des chaînes légères dans la lumière du néphron distal. Ceci conduit à l'inflammation interstitielle et à la fibrose (**Hutchison et al., 2012**).

Les manifestations hématologiques étaient présentes aussi chez nos patients, elles sont dominées par le syndrome anémique (56,41%). L'anémie résulte principalement d'une insuffisance médullaire liée à l'infiltration de la moelle osseuse par des cellules plasmocytaires malignes, d'un phénomène d'hémodilution lié à l'hyperprotéïnémie et de la diminution de la

sécrétion de l'érythropoïétine (EPO) consécutive à une insuffisance rénale (**Bladé et Rosinol, 2005**).

Une hypercalcémie était retrouvée aussi dans 10.25 %, un résultat comparable à celui retrouvé dans l'étude de **Kyle et al. (2003)**. Elle est principalement due à l'augmentation de la résorption ostéoclastique et une dépression de la formation osseuse, du faite d'une surexpression d'IL-6 par les cellules myélomateuse, ce qui module l'expression d'autres facteurs Co-activateur de la résorption osseuse (**Roux, 2016**).

Dans notre série, l'hypercalcémie se manifeste chez les patients myélomateux avec atteintes rénales, par des douleurs osseuses chez 13 cas (33,33%).

II. 1. Répartition des patients selon les antécédents personnels

Nos résultats montrent que 61.53% (n=24) des patients présentaient, en plus du MM, d'autres pathologies tels que indiqué dans la **figure 22**.

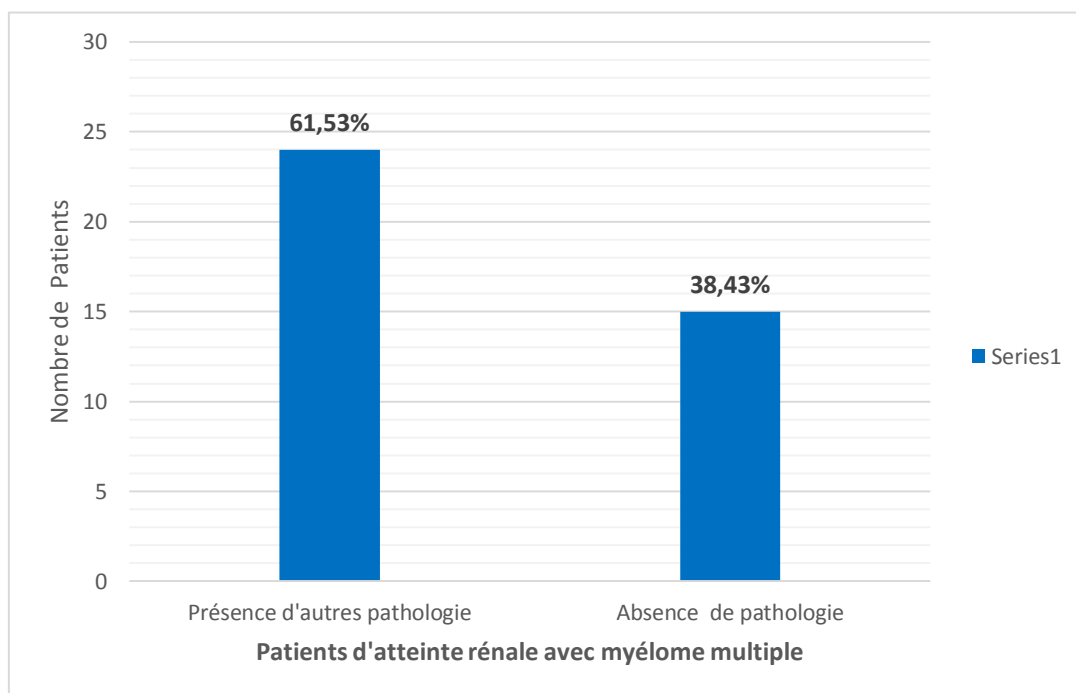


Figure 22 : Histogramme représentant la répartition des patients de myélome en association avec d'autre maladie ou syndrome.

Les patients présentaient un ou plusieurs antécédents personnels tels que le syndrome néphrotique (n=3), le syndrome anémique (n=1), le diabète (n=3), les pneumopathies (n=2), et les fractures (n=1).

Les premiers signes cliniques du MM sont divers et leur combinaison au diagnostic varie d'un patient à l'autre (**Durie et Salmon, 1975 ; Rajkumar et al., 2014**). Les structures glomérulaires peuvent être altérées par des maladies chroniques telles que le diabète, ayant pour conséquence une infiltration des immunoglobulines complètes principalement les IgG et IgA, contribuant ainsi à une atteinte rénale (**Le Bricon, 2001**).

L'atteinte rénale au cours du MM est en général observée chez un sujet dont le myélome est connu ; mais elle peut être isolée et précéder de plusieurs mois les premiers signes du myélome (**Bouterfas, 2014**).

Les cytopénies (anémie, neutropénie, thrombopénie) résultent d'une insuffisance de production secondaire à l'infiltration plasmocytaire de la moelle hématopoïétique (**Bataille, 1994**).

Les anomalies génétiques sont à l'origine de la grande hétérogénéité clinico-biologique du MM. Les gènes *FGFR3*, *NRAS*, *KRAS* et *BRAF*, ainsi que ceux codant pour les protéines MAPK sont mutés dans environ 65% des cas de MM. Une fréquence plus élevée de mutations dans les gènes *ATM/ATR* et *PRKD2*, altéré dans environ 11% des cas a aussi été mise en évidence. D'autre part, les mutations du gène *PRKD2* ne sont retrouvées que dans les plasmocytes tumoraux portant la translocation t(4 ;14). L'inhibition du produit de ce gène (Kinase PRKD2) conduit à l'inhibition de la prolifération *in vitro* des plasmocytes tumoraux porteurs de cette mutation (**Morgan et al., 2012**).

III. Aspects biologiques de la population étudiée

En plus de l'aspect épidémiologique de cette étude, nous nous sommes intéressés à étudier l'aspect biologique et qui englobe les concentrations sériques des marqueurs pronostiques ; la β_2m et l'albumine et de diagnostic ; la protéine de Bence Jones.

III. 1. Répartition des patients en fonction du taux de l'albumine

Nous avons quantifié l'albuminémie par EPP (électrophorèse des protéines sériques). Les valeurs obtenues ont été classées en se référant à la norme [40.2-47.6] g/l. Le taux sérique de l'albumine dans notre série variait entre 11,25 et 47,02 g/L avec une concentration moyenne de 29.86 ± 7.91 g/L. La présentation graphique (**Figure 23**) relève que 5 cas (12,82%) ont été classés dans la norme ; alors que 34 cas (87,18%) ont été inférieurs. Nos résultats sont similaires à ceux trouvés dans une étude tunisienne avec (87%, n= 47) (**Bouatay et al., 2012**).

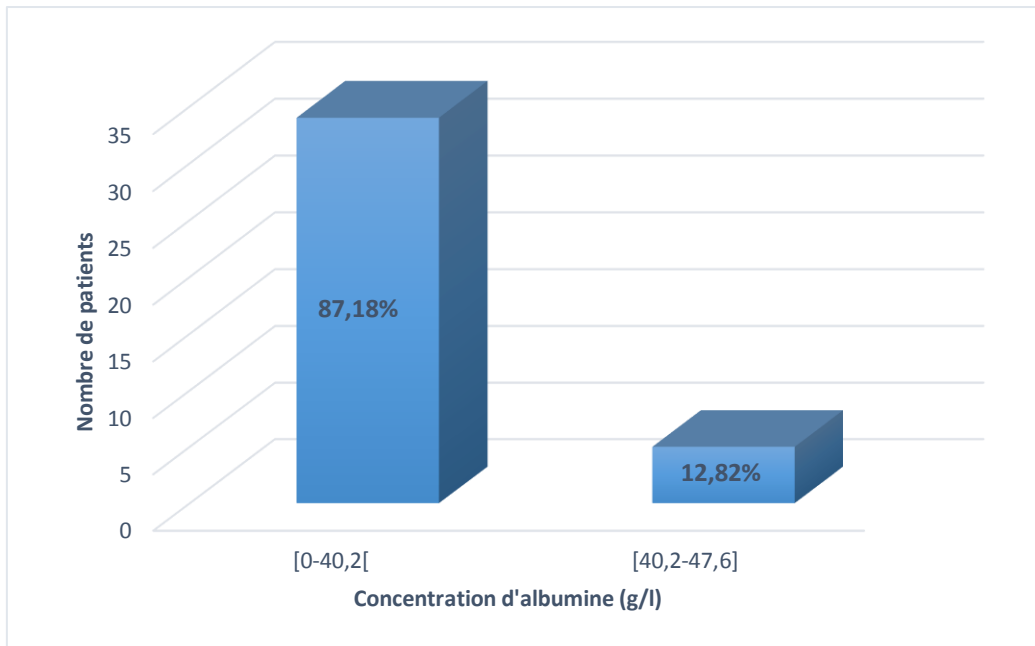


Figure 23 : Répartition des patients selon la concentration de l'albumine (g/l).

L'albumine est présente à faible concentration chez les individus atteints de MM. Ceci est dû, principalement, aux cytokines inflammatoires (telles que l'IL-6) sécrétées par le microenvironnement des plasmocytes médullaires. Ces cytokines inhibent le facteur C/EBP (CAA T1 Enhancer Binding Protein, C/EBP) responsable de la transcription du gène codant l'albumine au niveau des hépatocytes (Klein et al., 1991 ; Palumbo et al., 2015).

Nous avons également noté une hypo albuminémie chez 87,18% des patients. Cette situation est rare, elle se produit qu'en cas d'une inflammation aigue et/ou une hyperhydratation.

III. 2. Répartition des patients selon la concentration de la β -2-microglobuline

La β 2m a également été quantifiée par un dosage néphélométrique. Les teneurs en cette protéine ont été organisées selon la norme [1.1-2.4] mg/l. Le taux sérique de β 2m variait dans notre série entre 1.01 et 56.5 mg/L avec une concentration moyenne de 17.56 mg/L et un écart-type égale à 14.74. La présentation graphique ci-dessous (Figure 24) révèle que 1 cas (2.56%) a été classés dans la norme ; 37 cas (94.59%) supérieurs à la norme et 1 cas 2.56%, inférieurs à la norme.

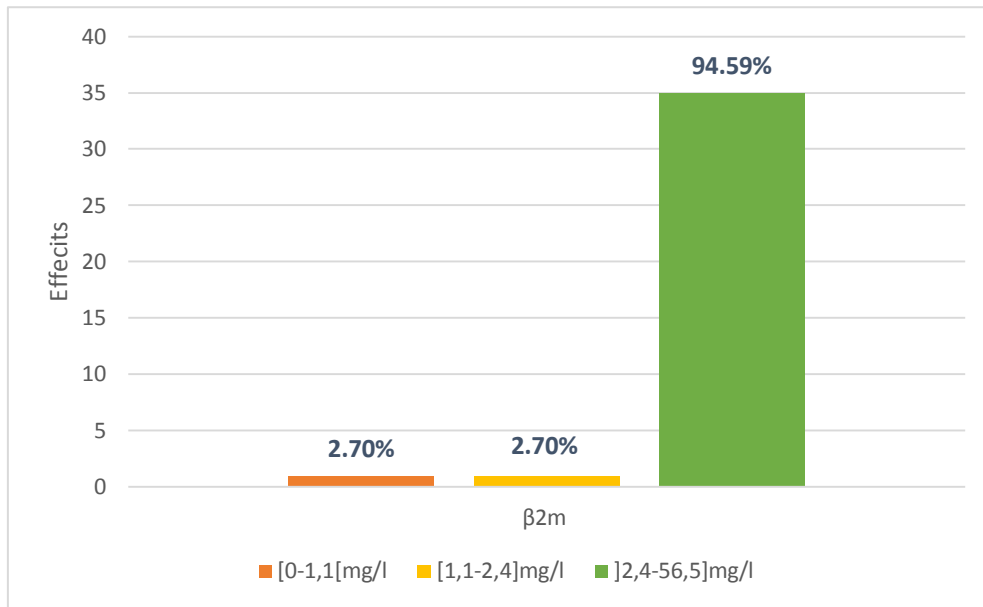


Figure 24 : Répartition des patients selon le taux sérique de β2m (mg/l).

Les taux médians de la β2m de notre série étaient de 12.62 mg/L. Ceci pourrait être expliqué par le fait qu’au cours du MM, la valeur de la β2m est le reflet à la fois de la masse tumorale, car elle est exprimée à la surface des plasmocytes malins, et à la fonction rénale en raison de sa filtration au niveau des reins dans le cas physiologique (Shi *et al.*, 2009).

III.3. Répartition des patients selon classification ISS

Dans le but d’estimer le pronostic de la maladie chez nos patients et grâce aux résultats du dosage de l’albumine et de la β2-microglobuline, nous avons réalisé la classification ISS.

Tableau II : répartition des patients selon la classification ISS.

Stade ISS	I	II	III
Critères	β2m < 3,5 mg/L et albumine ≥ 35 g/L	Ni stade I, ni stade III	β2m ≥ 5,5 mg/L
Nombre de patients (n)	1	5	31
Fréquence (%)	2.70	13.51	83.78

Nous avons relevé qu'un seul patient (2.70%) était au stade ISS I, 4 (10.81%) étaient au stade ISS II et 32 (86.49%) patients au stade ISS III (**Tableau II**).

Nous avons remarqué une augmentation de la concentration moyenne de la β_2m en avançant dans les stades ISS. Elle atteint sa valeur la plus élevée au stade III, tandis que le taux moyen d'albumine diminue. Nos résultats rejoignent globalement l'étude de **Younes et al. (2014)** qui a démontré qu'un taux élevé de β_2m et une l'hypoalbuminémie se corrèlent avec les stades ISS.

IV. Aspects immunochimiques de la population étudiée

Nous avons aussi abordé l'aspect immunochimique qui repose sur la mesure et la détection de différents paramètres, tels que la concentration du composant monoclonal, sa zone de migration sur EPP, le type d'immunoglobuline monoclonal par IF et la chaîne légère qui la reconstitue par néphélométrie.

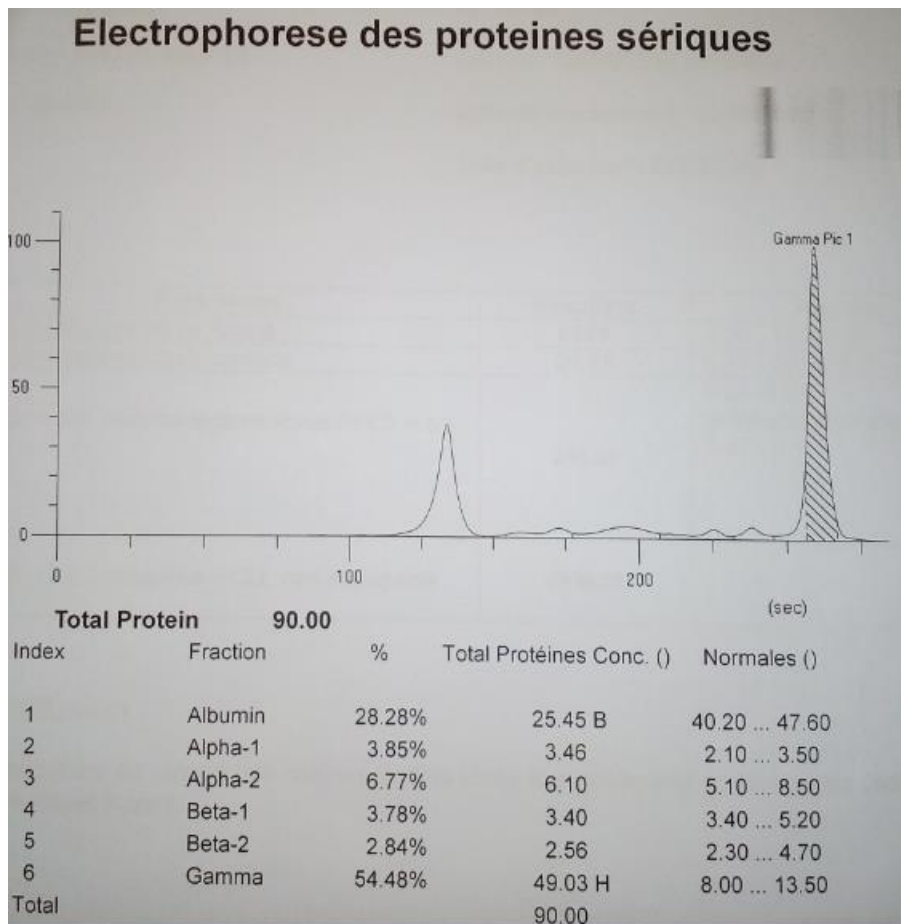


Figure 25 : Electrophorèse des protéines sériques sur V8.

B : hypo, H : hyper.

Profil électrophorétique des fractions protéines sériques albumine (Alb) et globulines (a1, a2, b et g)

La **figure 25** est un exemple d'un résultat d'une EPP sur appareil « V8 helena », réalisée pour un patient de sexe masculin âgé de 57 ans.

L'électrophorèse pratiquée montre la présence d'un pic d'allure monoclonale dans la zone des gammaglobulines, évalué par densitométrie à 54,48 % soit 49.03 g/L (protéines totales à 90 g/L) (**Figure 25**).

Nous avons observé la présence d'un composant monoclonale en position gamma, de concentration égale à 43.86 g/L. Le graphe a révélé qu'il s'agit d'une chaîne légères Kappa. Nous avons noté aussi une hypoalbuminémie et une hypogammaglobulinémie.

Une hypoalbuminémie peut également être observée au cours des gammopathies monoclonales malignes (myélome multiple). Dans ce contexte, du fait de l'hypergammaglobulinémie, un mécanisme de régulation de la pression oncotique tend à faire baisser la concentration d'albumine dans le plasma (**Bach-Ngohou et al., 2005**).

IV. 1. Répartition des isotypes selon la zone de migration sur l'EPP

Une électrophorèse des protéines sériques a été effectuée pour détecter la présence du pic monoclonal et localiser sa zone de migration.

Comme il est représenté dans la **figure 26** ci-dessous, un pic monoclonal a été retrouvé chez 38 cas parmi les 39 de notre série. La migration du composant monoclonal (CM) était au niveau de la zone des gammaglobulines chez 25 cas (64,10%), 12 cas ont marqués une migration dans la zone des β -globulines (30,76%) et 1 cas avait une migration à la fois dans la zone β et gammaglobulines (2,56 %). Aucun pic n'a été détecté chez 1 patient.

Nos résultats sont en accord avec les résultats de l'étude de **Boutay** qui a montré un pic monoclonal chez 75,9% des cas, avec prédominance de la migration dans la zone des γ globulines dans 65,8% des cas et 19,5 % dans la zone des β globulines (**Boutay, 2012**), et à celle **El khalifa** qui a montré un pic monoclonal chez 70% des cas, avec prédominance de la migration dans la zone des γ globulines dans 85,71% des cas et 10 % dans la zone des β globulines (**El khalifa, 2017**).

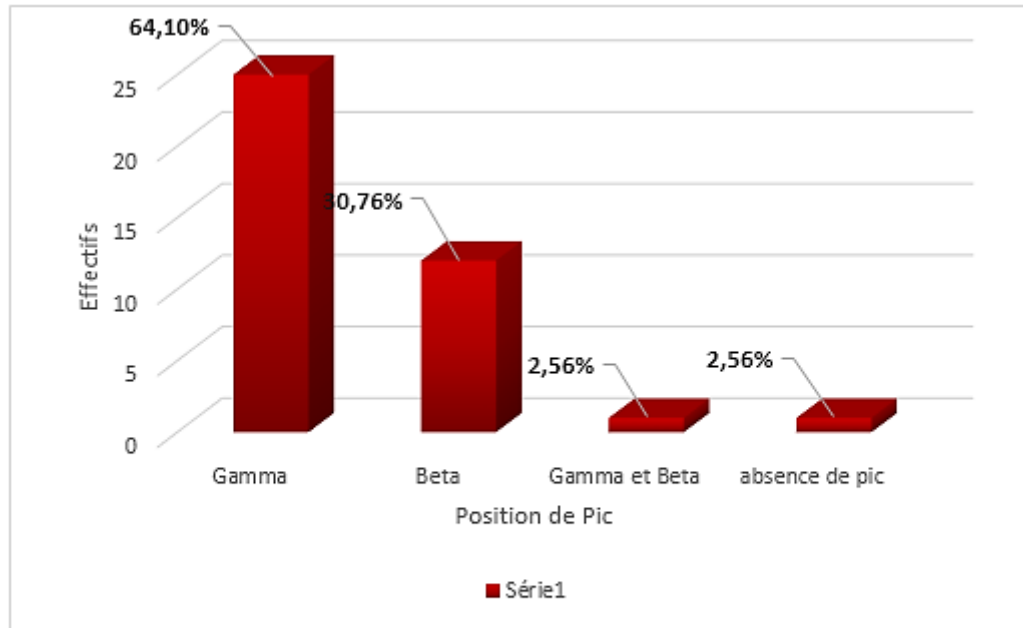


Figure 26 : Répartition des CM selon la zone de migration à EPP.

Pour l'aspect immunochimique, un pic monoclonal électrophorétique a été constaté chez 97,44% des patients de notre série sous forme d'une bande étroite, avec une migration dans différentes zones dans l'ordre de fréquence décroissante : 64,10% γ globulines, 30,76% β globulines, 2,56 % double pic dans β et γ globulines.

Selon l'ordre de migration décroissante sur EPP des fractions α , β et γ globulines, les immunoglobulines monoclonales migrent, essentiellement dans la zone des γ globulines. Néanmoins, il s'est avéré que la fraction des β globulines distingue deux grandes catégories ; les β -1 globulines, qui regroupent notamment l'hémopexine et la transferrine, et les β -2 globulines, qui comprennent en particulier les immunoglobulines A (IgA). Ceci pourrait expliquer la raison pour laquelle l'intégralité des immunoglobulines n'ont pas migré dans la zone γ (Boutay et al., 2012).

IV. 2. Répartition des patients selon le type du composant monoclonal

Dans le but de déterminer le type de l'immunoglobuline monoclonale et la chaîne légère dominante dans notre population, une immunofixation (IF) (sérique et urinaire) a été effectuée.

Exemple d immunofixation sérique on utilisant l'appareil « SAS-3- et SAS -4- », réalisée pour une seule patiente, les résultats obtenu sur une membrane (figure 27).

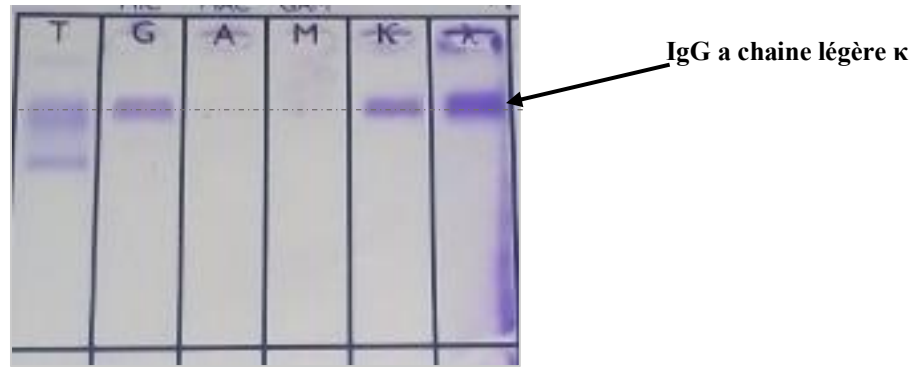


Figure 27 : Immunofixation des protéines sériques sur membrane.

T : témoin ; G : IgG ; A : IgA ; M : IgM ; κ : chaîne légère kappa ; λ : chaîne légère lambda.

Dans le but de typer l'immunoglobuline monoclonale, nous avons réalisé une IF sur gel d'agarose avec une coloration violette acide. Nous avons constaté la présence d'une bande violette chez le patient, au même niveau de migration que les sérums témoins anti-chaîne lourde (anti γ , α , μ) et légère (anti-kappa ou anti-lambda). Le résultat, illustrées dans la figure 27, indique la présence d'une IgG monoclonale à chaîne légère κ . Cette bande étroite est également retrouvée sur la première piste témoin d'électrophorèse (**Figure 27**).

IV. 2.1. Répartition des patients selon le type d'immunoglobuline monoclonale

La distribution des pics est dispersée sur les différentes classes d'immunoglobulines ; nous distinguons : des atteintes avec myélome sécrétant une Ig complète (IgG, IgA,) ou des myélomes à chaînes légères libres (κ et λ).

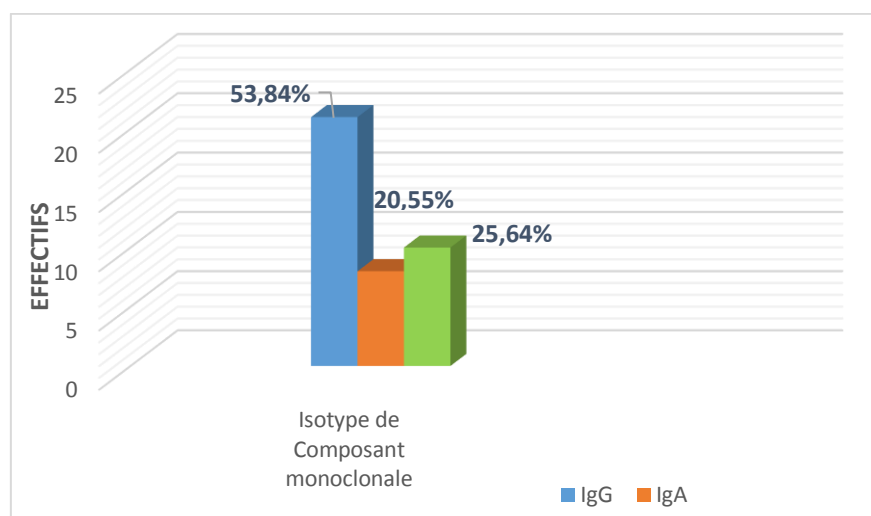


Figure 28 : Répartition des patients selon le type du composant monoclonal.

IgA : Immunoglobuline d'isotype A ; IgG : Immunoglobuline d'isotype G ; CLL : Chaîne légère libre.

La présentation graphique (**Figure 28**) révèle une prédominance des IgG de 53.84% (n=21), devant les myélomes sécrétant des chaînes légères libres (κ , λ) chez 25.64% des cas (n=10) suivi par les IgA chez 20.51% des cas (n=8). Les isotypes IgM, IgD et IgE n'ont pas été retrouvés dans notre série.

La concentration moyenne du composant monoclonal de notre série était de 15.96 ± 16.17 g/L. Elle se rapproche de celle retrouvée dans l'étude de Finney qui est de 18.9 g/L pour une population de 60 patients (**Finney et al., 2001**).

Dans le cas physiologique, les IgG sont les plus synthétisées par rapport aux IgA qui viennent en 2^{ème} lieu, de plus 75% des immunoglobulines sériques sont des IgG (**Hunt, 2012**). Il paraît donc tout à fait cohérent de retrouver une telle proportion au sein de MM.

IV. 2. 2. Répartition des patients selon le type de la chaîne légère libre

La répartition en fonction de type de chaîne légère révèle une prédominance des chaînes légères λ (90%) par rapport à la chaîne légère κ (10%).

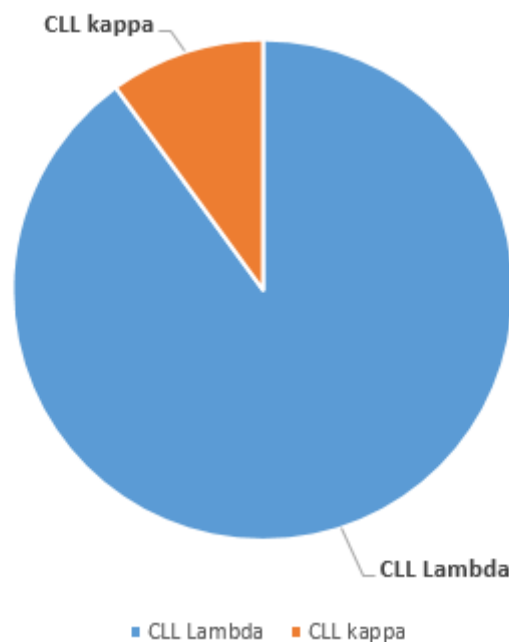


Figure 29 : Répartition des patients selon le type de chaîne légère libre.

La présence de chaîne légère seule pourrait être dû au fait que la cellule myélomateuse a perdu sa capacité de fabriquer des chaînes lourdes. En effet, une mutation du gène de la chaîne lourde IGH localisé sur le chromosome 14(14q32) codant pour la chaîne lourde a été décrite (**Avet-Loiseau et al., 2000 ; Touassa, 2015**).

Nous pouvons cependant dire que le type de chaînes légères observé doit être dépendant du type d'Ig et de la sévérité du myélome multiple. Les cas de MM sévères sont souvent caractérisés par l'isotype IgG de chaîne légère κ (**Koffi et al., 2000**).

Nos résultats concernant la chaîne légère dominante dans le MM sont différents de ceux rapportés par **Koffi et al. (2000)** (Kappa à 75% et Lambda à 25%) ; **El Mezouar (2010)** d'où Kappa est de 56.25% et Lambda de 43.75% et **El Houzi (2016)**.

Les chaînes légères κ sont physiologiquement synthétisées en premier lieu lors de l'exclusion allélique, ceci pourrait expliquer son pourcentage élevé comparé à celui de λ . Dans la physiologie, la cellule produit 2/3 de chaînes légères κ devant 1/3 de chaînes légères λ (**Abraham et al., 2002**).

En effet, une même cellule n'exprime jamais à la fois une chaîne kappa et une chaîne lambda (exclusion isotypique). La toute première tentative de recombinaison pour les chaînes légères s'effectue au niveau de l'un des deux gènes kappa. En cas d'échec il est fait appel au gène kappa(IGK) de l'autre chromosome 2. En cas de nouvel échec il est fait appel aux gènes lambda(IGL). A leur niveau, chez l'homme, 12 tentatives seront possibles puisqu'il y a 6 gènes codant la partie constante des chaînes lambda sur chaque chromosome 22 (**Chaudhuri et Alt, 2004**).

La prédominance des chaînes légères λ pourrait s'expliquer par des réarrangements au niveau des gènes des immunoglobulines, au cours desquels une délétion dans le gène $C\mu$, se produirait de façon préférentielle dans les cellules produisant des immunoglobulines à chaînes légères λ (**Bartoloni et al., 1980**).

IV. 2. 3. Répartition des patients selon la classe de la chaîne lourde et de la chaîne légère du Composant Monoclonal

La répartition selon la classe de la chaîne lourde et de la chaîne légère du CM est illustrée dans le **tableau III** suivant :

Tableau III : Répartition selon la classe de la chaîne lourde et de la chaîne légère.

	Kappa		Lambda	
	N	%	N	%
IgG	13	33.33	9	23.07
IgA	3	7.69	4	10.26
Chaîne légère libre	1	2.56	9	23.07
Total	17	41.02	22	56.40
Pic Biclonal	2	5.13	2	5.13

Dans notre étude, nous avons observé que parmi les patients atteints de MM à IgG, 13 (33.33%) avaient une chaîne légère de type kappa alors que 9 patients (23,07%) avaient une chaîne légère d'isotype lambda. Les patients atteints de MM à IgA, 3 (7.69 %) avaient une chaîne légère de type kappa alors que 4 patients (10.26%) avait une chaîne légère d'isotype lambda. Concernant les patients atteint de MM à chaîne légère libre, 1 (2.56%) avaient une chaîne légère de type kappa alors que 9 patients (23.07%) avaient une chaîne légère d'isotype lambda.

D'après l'étude de **Moumas et al. (2011)**, les mêmes concentrations ont été trouvées pour les chaînes légères kappa et lambda.

IV. 3. Répartition des patients selon la présence ou l'absence de la protéinurie de Bence Jones

Une électrophorèse des urines a été effectuée pour les 39 patients, dans le but de détecter la présence de la protéinurie de Bence Jones (chaîne légère libre monoclonale dans les urines).

Les résultats du test urinaire sont représentés dans la **figure 30** et révèlent que la PBJ était absente chez 21 patients soit 53.85 % et présente chez 17 cas soit 43.59%.

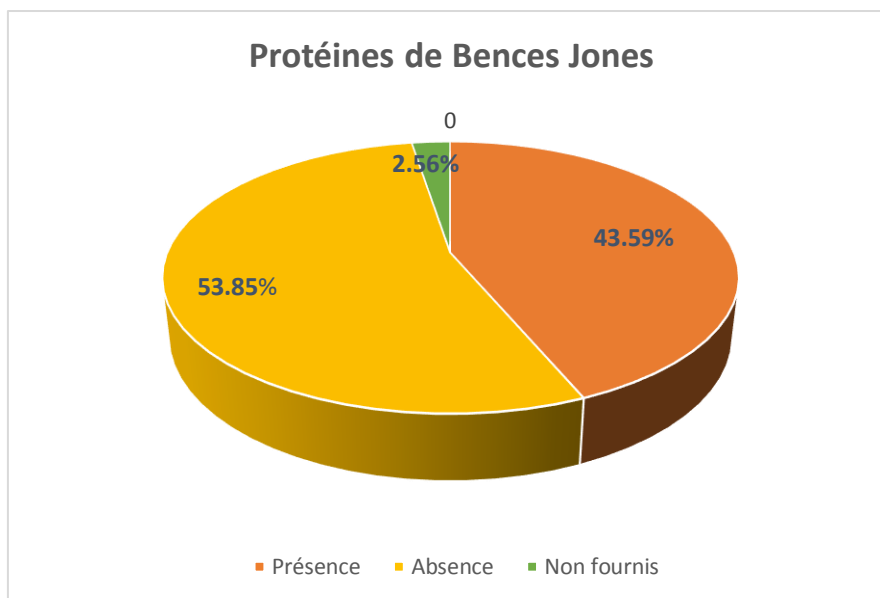


Figure 30 : Répartition des patients selon la présence ou l'absence de la protéinurie de Bence Jones au niveau des urines (n=39).

La protéinurie de Bence Jones correspond à la présence de chaînes légères libres au niveau urinaire ce qui révèle une atteinte rénale, les chaînes légères libres produites en excès vont alors se précipiter au niveau du tube distal et entraîner une insuffisance rénale ou une aggravation de cette dernière (**Hutchison et al., 2012**). A ce stade, les concentrations sériques augmentent rapidement, alors que les concentrations urinaires diminuent (**Lopez, 2006**), d'où l'absence chez 21 cas (**53.85%**) et les concentrations sériques élevés soit des chaînes légères kappa ou lambda.

La présence de cette protéine constitue un argument pour un diagnostic en faveur d'un myélome. Dans un myélome déjà diagnostiqué, le taux de la protéinurie de Bence Jones permet d'évaluer l'évolution de la maladie et l'efficacité du traitement. Elle présente une valeur péjorative en ce qui concerne la fonction rénale. Cependant, elle peut être présente dans les urines au cours d'autres maladies.

En synthèse des résultats discutés plus haut, nous constatons que parmi les 39 patients, il existe ceux présentant une atteinte rénale avec MM à chaîne légère sérique seulement (n= 22), ceux à chaîne légère sérique et urinaire à la fois (n=17).

V. Recherche de corrélations entre les différents marqueurs pronostiques

Afin de rechercher des corrélations entre les concentrations des différents marqueurs pronostiques (β_2m et l'albumine) et diagnostic (PBJ), nous avons utilisé le test de corrélation non paramétrique de Spearman avec un niveau de significativité $P < 0.05$.

La β_2m et l'albumine sont des facteurs pronostics utilisés pour connaître le score d'agressivité (ISS), le reflet de la masse tumorale (Classification de Durie-Salmon) et l'insuffisance rénale. Aussi, ils nous permettent de définir le traitement du myélome. Le taux sérique de β_2 -microglobuline est le principal paramètre pronostique, s'y ajoutent l'hypoalbuminémie, l'anémie, la thrombopénie (Janvier et al., 2008). Une β_2m sérique élevée est associée à une survie plus courte donc à un mauvais pronostic (Ouzzif et al., 2006).

V.1. Corrélation entre les taux sériques de la β -2-microglobuline et de l'albumine

Dans un premier temps, nous avons vérifié s'il existe une corrélation entre le taux sérique de β_2m et l'albumine chez les patients de MM avec une atteinte rénale. Les résultats sont illustrés dans la **figure 31**.

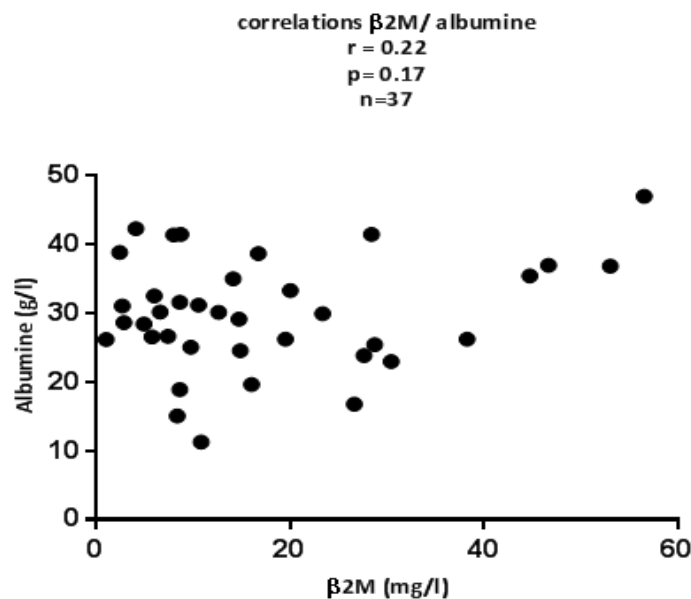


Figure 31 : Corrélation entre les taux sériques de la β_2m et l'albumine.

Les résultats montrent qu'il n'existe pas de corrélation significative entre les deux marqueurs « β 2m-Albumine» avec un coefficient de régression $r= 0.22$ et une valeur $P=0.17$.

On retiendra également le mauvais pronostic assorti à une albumine sérique basse et une β 2m élevée (**Ouzzif et al., 2006**).

Le taux de β 2m est d'autant plus élevé que la masse tumorale est importante. Cependant, son élimination étant rénale, le taux sérique est augmenté en cas d'insuffisance rénale, situation non exceptionnelle dans le MM (**Lodé, 2005**). L'hypo albumine est due à une fuite rénale de l'albumine reflet d'une atteinte rénale (**Manier et Leleu, 2011**).

VI. Recherche d'une association entre les différents signes clinico-biologiques et le taux sérique de la β -2-microglobuline

Dans le but de rechercher s'il existe une association entre les différents signes clinico-biologiques et le taux sérique de marqueur pronostique (β 2m), nous avons utilisé le programme « Compare 2 » avec lequel nous avons obtenu les valeurs de P (Il existe une association si la valeur de $P < 0.001$) (**Tableau IV**).

Tableau IV : Les signes clinico-biologiques en fonction de la concentration sérique de la β 2m.

	β2m élevée	P
Présence d'Insuffisance rénale	28	P= 0.477
Absence d'insuffisance rénale	6	
Présence douleur osseuse	11	P= 0.55
Absence douleur osseuse	24	
Présence Anémie	21	P= 0.18
Absence Anémie	14	
présence hypercalcémie	3	P= 0.003
Absence hypercalcémie	32	

Les résultats ont montré qu'il n'y a pas d'association entre le taux sérique de la « β 2m» et l'insuffisance rénale ainsi qu'avec le syndrome anémique, pour des valeurs P non significatives de 0.477 et 0.18 respectivement. Même résultats pour les douleurs osseuses $P=$ 0.55 et l'hypercalcémie $P=$ 0.003. Ceci peut être expliqué par le faible échantillonnage de notre série.

En effets, les patients ayant une insuffisance rénale et/ou le syndrome anémique ils ont un taux sérique élevé de la β 2m.

La β 2m est synthétisée dans toutes les cellules de l'organisme, particulièrement par les lymphocytes et les cellules tumorales. En raison de sa petite taille, elle diffuse librement dans l'espace extravasculaire et est totalement filtrée par le glomérule rénal, puis réabsorbée à 99,9% par le tube contourné proximal. Elle est ensuite dégradée dans les cellules tubulaires rénales. La β 2m est un marqueur d'atteinte tubulaire (**Biomins, 2012**).

Le taux élevé de la β 2m s'associe avec le syndrome anémique, ceci pourrait être justifié par le fait qu'elle est exprimée à la surface des plasmocytes malins. La prolifération plasmocytaire médullaire excessive de ces dernières, limite la prolifération des autres lignées cellulaires dont les progéniteurs érythroïdes et diminue l'érythropoïèse (**Manier et al., 2011**).

VI. 1. Recherche d'une association entre les taux sériques de l'albumine et de la présence de Protéine de Bence Jones

Nous avons, aussi, vérifié s'il existe une association entre le taux sérique de l'albumine et la présence de protéine de Bences Jones, chez les patients atteints de MM avec atteinte rénale (**Tableau V**).

Tableau V : Association entre l'albumine et la protéine de Bence Jones.

	Présence de PBJ (n=17)	Absence de PBJ (n=22)	P
Hypo albuminémie	15	18	P=0.465

Nous avons constaté qu'il n'y avait d'association entre le marqueur de pronostic « albumine » et le marqueur de diagnostic « Protéine de Bence Jones », bien qu'elles soient considérées comme étant des signes de dysfonctionnement rénal.

VI. 2. recherche d'une association entre les taux sériques des chaînes légères et l'insuffisance rénale

Enfin, nous avons vérifié s'il existe une association entre le taux sérique de CLL et l'insuffisance rénale (**Tableau VI**).

Tableau VI : Association entre les chaînes rénales et l'insuffisance rénale.

	Présence d'insuffisance rénale	Absence d'insuffisance rénale	P
CLL	9	1	0.41

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessous. Nous constatons qu'il n'existe pas d'association statistique entre les chaînes légères libres et l'insuffisance rénale, la valeur P étant de 0.41 ($P < 0.001$) dans notre série. Ceci peut être expliqué par le faible nombre des MM à chaînes légère dans notre série.

Les concentrations sériques et urinaires des CLL ont des cinétiques différentes au cours de l'évolution tumorale : les concentrations sériques de CLL monoclonales augmentent parallèlement au développement tumoral, alors que des CLL n'apparaissent dans les urines que lorsque la capacité de réabsorption tubulaire est dépassée. Les quantités de CLL retrouvées dans les urines sont plus dépendantes de la fonction rénale que de la synthèse tumorale, même lorsque la production est considérablement accrue (**Mussta et al., 2006**).

Chapitre IV: Conclusion & Perspectives

Le MM est une gammapathie monoclonale de diagnostic, le plus souvent, facile fondé sur la présence d'une infiltration plasmocytaire médullaire maligne, d'un pic monoclonal et d'une atteinte organique telle qu'une atteinte rénale. Le MM est caractérisé par une infiltration glomérulaire d'immunoglobulines complètes ou incomplètes, pouvant être attribuée à la prolifération plasmocytaire.

L'atteinte rénale est fréquente au cours du myélome, elle peut être isolée et précédée de plusieurs mois les premiers signes du myélome. La complication rénale la plus fréquente au cours du myélome multiple est la néphropathie cylindre myélomateux.

L'étude rétrospective et prospective que nous avons menée a permis de mieux cerner les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, biologiques de l'atteinte rénale au cours du MM. Comme rapporté dans la littérature, la maladie atteint surtout les sujets âgés. L'âge moyen dans notre série était de 64 ans avec une faible prédominance féminine.

Sur le plan biologique, la maladie est caractérisée par des taux élevés du marqueur β_2m et une hypoalbuminémie, marqueurs pronostic. Sur le plan immunochimique, le pic monoclonal dans notre cohorte, migrait le plus souvent dans la zone γ globuline avec une prédominance des IgG, des chaînes légères de type λ ainsi que la protéinurie de Bence Jones, présente chez 43.59 % des patients.

L'insuffisance rénale était les plus fréquentes comme signe révélateur conjointement aux signes hématologiques « anémie ». Sur le plan biochimique, les troubles observés étaient l'hypercalcémie. Selon l'index ISS, les patients de notre population appartiennent majoritairement au stade III.

Les paramètres clinicobiologiques des classifications de Salmon et Durie et de l'ISS restent toujours d'actualité pour la stratification pronostique des patients atteints de MM. Les données génétiques vont permettre d'effectuer une classification moléculaire de cette hémopathie maligne permettant de proposer des facteurs pronostiques forts et une aide à la prise en charge thérapeutique.

D'après les corrélations effectuées, l'existence d'un lien entre les taux sériques des deux marqueurs pronostiques « β_2m et albumine » a été démontrée. En effet, nous avons observé l'absence de corrélation entre les taux de l'albumine et ceux de la β_2m .

Les associations effectuées ont démontré que le taux élevé de la β_2m n'a aucun lien avec les manifestations cliniques. Le même constat a été fait entre l'albumine et la protéine de Bence Jones. Le dosage de l'IL-6 serait d'un grand intérêt chez ces patients.

Enfin, 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.

Au cours de ces dernières décennies, les chercheurs ont étudié la régulation des mécanismes de surveillance des ARNs dans les lymphocytes B, en analysant les transcrits d'immunoglobulines non-productifs. Ces approches utilisent les gènes d'Ig en tant que modèles présentant une fréquence élevée de PTC (codons stop prématurés). Une élimination sélective des plasmocytes porteurs de ce gène a été observée, cette particularité étant naturellement liée au processus aléatoire de recombinaisons V(D)J. Une disparition de ces cellules au cours de la différenciation plasmocytaire semble liée à la production d'Ig tronquées codées par les gènes *PTC+*. Actuellement, les chercheurs dans le domaine étudient par quels mécanismes des taux élevés d'Ig tronquées peuvent provoquer une toxicité cellulaire.

Malgré les progrès significatifs réalisés dans le domaine thérapeutique depuis plus de 20 ans, le myélome multiple reste une pathologie incurable.

Références Bibliographiques

1. **ABDOULKARIM, O, et al.** Atteintes rénales au cours du myélome multiple en contexte subsaharien: profils épidémiologique, diagnostique, pronostique et évolutif. *Néphrologie & Thérapeutique*, 2017, 2 pages.
2. **ABRAHAM, R, et al.** Case report-Trimolecular Complexes of 1 Light Chain Dimers in Serum of a Patient with Multiple Myeloma. *Clinical Chemistry-International Journal of Laboratory Medicine and Molecular Diagnostic*, 2002, 48(10) : p. 1805-1811.
3. **ALEXANDER, D, et al.** Multiple myeloma: a review of the epidemiologic literature. *Int J Cancer*, 2007, 22 pages.
4. **ALT, F, et al.** From Gene Amplification to V(D)J Recombination and Back: a Personal Account of My Early Years in B Cell Biology, *Eur. J. Immunol*, 2007, 37, S138–S147.
5. **AZROUF, I.** *Atteinte rénale au cours du mylome multiple (à propos de 95 cas)*. Thèse de doctorat en médecine. Fes : Université : SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH, 2016, 169 pages.
6. **AVET-LOISEAU, H, MINVIELLE, S, BATAILLE, R.** Translocations impliquant le gène codant pour les chaînes lourdes d'immunoglobulines dans le myélome multiple : un phénomène universel. *Hématologie*, 2000, 6(4):272-9.
7. **AVET-LOISEAU, H.** Role of genetics in prognostication in myeloma. *Best.Pract.Res.Clin.Haemato*, 2007, 20(4): 625-635.
8. **BACH-NGOHOU, S, SCHMITT, LE CARRER, D, et al.** Les dysalbuminémies. *Ann Biol Clin*, 2005, 63 (2) : 127-34.
9. **BARILLÉ-NION, S, et al.** Advances in biology and therapy of multiple myeloma. *Program Book*, 2003, (1): 248-278 pages.
10. **BATAILLE, R.** Plasmocytomes humains, étude clinique, diagnostic et pronostic. *Hématologie*, 1994, 13-014-C10 : 6 p.

11. **BARTOLONI**, C, FLAMINI, G, LOGROSCINO, C, et al. IgD (κ) “no secretory” multiple myeloma: report of a case, *Blood*, 1980, 56 : 898- 901.
12. **Bergsagel**, P, *et al.* Improving overall survival and overcoming adverse prognosis in the treatment of cytogenetically high-risk multiple myeloma. *Blood*, 2013, 121, 884–892.
13. **Bertrand**, F, *et al.* Notch-1 and Notch-2 exhibit unique patterns of expression in human B- lineage cells. *Leukemia*, 2000, 14, 2095-102.
14. **BLADÉ**, J, ROSINOL, L. Renal hematologic and infectious complications in multiple myeloma. *Best Pract Res Clini Haematol*, 2005, 18(4):635—52.
15. **BOUSCARY**, D, ROUX, C, RAVAUD, P. Myélome multiple : manifestations Cliniques. *EMC*, 2003, 1-10 pages.
16. **BOUTONAT**, J, *et al.* Le tissu hématopoïétique. 2008, 293-295.
17. **BOUATAY**, A, HIZEMA, S, BEN YUCEF, Y. Myélome multiple : aspect clinique, diagnostic biologique et pronostic. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, 2012, 6 pages.
18. **BOUTERFAS**, B. Atteinte rénale au cours du myélome multiple : résultat d’une étude monocentrique au CHU de Sidi Bel Abbés. *Néphrologie & Thérapeutique*, 2014, 1 page.
19. **BRUNO**, B, *et al.* « Novel targeted drugs for the treatment of multiple myeloma: from bench to bedside ». *Leukemia*, 2005, 1729–1738 p.
20. **BINET**, C, DOMENCH, J, HERAULT, O. *Cellules souches hématopoïétiques : propriétés, description des différents types*. 2004, 2 pages.
21. **BIOMINS**. BETA 2-MICROGLOBULINE. *Précis de pathologie analyses médicales spécialisées*, 2012, 3 pages.
22. **CHAIBI**, P, MERLIN, L, MARTIN, Y, *et al.* Myélome et dysglobulinémie monoclonale. *La Revue de Gériatrie*, 2000, 25(4) : 255 pages.

23. **CHAUDHURI**, J, ALT, F. Class-switch recombination: interplay of transcription, DNA deamination and DNA repair. *Nat. Rev. Immunol*, 2004, 4, 541–552.
24. **CORRE**, J. Microenvironnement tumoral et Myélome. *IUCT-Oncopole*, 2015, 29 pages.
25. **DE VOS**, J. *Analyse moléculaire du myélome : vers de nouvelles perspectives thérapeutiques. Sciences du Vivant [q-bio]*, 2001, 182 pages.
26. **DE VOS**, J, *et al.* Identifying intercellular signaling genes expressed in malignant plasma cells by using complementary DNA arrays. *Blood*, 2001, 98, 771-780 pages.
27. **EL HOUZI**, A. *Myélome multiple à propos de 40 cas*. Thèse de doctorat en médecine. Mrrakach : Université CADI AYYAD, 2016, 137 pages.
28. **EL KHALIFA**, Y. *Myelome Multiple*. Thèse de doctorat en médecine. Mrakkch : université CADI AYYAD, 2017, 163 pages.
29. **ELMEZOUAR**, I. *Myélome multiple à propos de 58 cas*. Thèse de doctorat en médecine. Fes : Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, 2010, 199 pages.
30. **FALL**, S, *et al.* Profil diagnostique et évolutif du myélome multiple au Sénégal: étude monocentrique de 2005 à 2016. *Pan Afr Med J*, 2017, 27: 262.
31. **FEUILLARD**, J, RAPHAEL, M. Différenciation lymphocytaire B et lymphomes B périphériques, *Hématologie*, 2000, 6(5) : 345-359 pages.
32. **FINNEY**, H, WILLIAMS, AH, PRICE, CP. Serum cystatin C in patients with myeloma. *Clinica Chimica Acta*, 2001, 309 : 1–6.
33. **GARETH**, J, *et al.* The genetic architecture of multiple myeloma. *NATURE REVIEWS / CANCER*, 2012, 14, 335-348 pages.
34. **GUILLEM**, D. *Gentside Découverte : cancer. [en ligne]*. (mise à jour le 17 février 2016) Disponible sur :

http://Desktop/Cancer%20_%20définition,%20causes,%20types,%20qu'est-ce%20que%20c'est%20_.html (Consulté le 10/05/2018).

35. **HAROUSSEAU**, JL, **MOREAU**, P. Autologous hematopoietic stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N. Engl. J. Med*, 2009, 360(25): 2645-2654 pages.
36. **HIDESHIMA**, T, **MITSIDES**, C, **TONON**, G, *et al.* Understanding multiple myeloma pathogenesis in the bone marrow to identify new therapeutic targets. *NATURE REVIEWS/CANCER*, 2007, 14 pages.
37. **HUNT**, R. *Immunoglobulines - structure et fonction : Immunologie*. [en ligne]. (mise à jour le 25 Octobre 2012) Disponible sur : [http:// IMMUNOGLOBULINES%20-%20STRUCTURE%20ET%20FONCTION.html](http://IMMUNOGLOBULINES%20-%20STRUCTURE%20ET%20FONCTION.html) (Consulté 06/2018).
38. **HUTCHISON**, C-A, **COCKWELL**, S, **REID**, K, *et al.* Efficient removal of immunoglobulin free light chains by hemodialysis for multiple myeloma: in vitro and in vivo studies. *J.Am.Soc.Nephrol*, 2017, vol 18, no 3, 886–895 pages.
39. **HUTCHISON**, C, *et al.* The pathogenesis and diagnosis of acute kidney injury in multiple myeloma. *NATURE REVIEWS/ NEPHROLOGY*, 2012, 8, 43–51 pages.
40. **JACOPIN**, Sophie. *Comprendre le Myélome Multiple*, Édition : « Institut National du Cancer (INCA), France : Association Française des malades du myélome multiple (AF3M) », 2015, 76 pages. ISBN 978-2-37219-134-0.
41. **JANEWAY** *et al.* *Immunobiologie*. Paris : bock and larciers. 2009, 3 : 8-9.
42. **JANVIER**, M. Immunoglobuline monoclonale et myélome. Devenir et suivi des immunoglobulines monoclonales, nouveaux aspects diagnostiques et thérapeutiques du myélome. *Revue du Rhumatisme*, 2008, 4 pages.
43. **JAHANGIR**, A, *et al.* Role of tumor suppressor p53 and micro-RNA interplay in multiple myeloma pathogenesis. *Hematology & Ecology*, 2017, 11 pages.
44. **JASPARD**, E. *Les immunoglobulines et la recombinaison V(D)J*. Biochimej [**Enligne**]. Disponible sur : <http://biochimej.univ->

angers.fr/Page2/COURS/Zsuite/8Immunoglobulines/1Immunoglobulin.htm. Consulter le 13 juin 2018.

45. **JEGO**, G, **ROBILLARD**, N, **PUTHIER**, D, *et al.* Reactive plasmacytoses are expansions of plasmablasts retaining the capacity to differentiate into plasma cells. *Blood*, 1999, 94(2): 701-712 pages.
46. **JOURDE-CHICHE**, N, **DUSSOL**, B, **DANIEL**, L. Les atteintes rénales au cours des hémopathies malignes. Stratégie diagnostique. *La Revue de médecine interne*, 2010, 12 pages.
47. **KIZAKI**, M et **TABAYASHI**, T. The role of intracellular signaling pathways in the pathogenesis of multiple myeloma and novel therapeutic approaches. *Clin. Exp. Hematop*, 2016, 56 (1) : 20-27.
48. **KLEIN**, B, **BATAILLE**, R. *Interleukin-6 et myélome multiple chez l'homme*. 1991, 326-336.
49. **KLEIN**, B, *et al.* Interleukin-6 in human multiple myeloma. *Blood*, 1995, 85, 863-872.
50. **KOFFI**, K, *et al.* Caractéristiques du myelome multiple du noir africain experience de la cote D'ivoire. *Médecine d'Afrique Noire*, 2000, 6 pages.
51. **KORDE**, N, **KRISTINSSON**, S, **LANDGREN**, O. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering multiple myeloma (SMM): novel biological insights and development of early treatment strategies. *Blood*, 2011, 117, 5573–5581.
52. **KUMAR**, S., **Witzig**, T., and **Timm**, M. Expression of VEGF and its receptors by myeloma cells. *Leukemia*, 2003, 17, 2025–2031.
53. **KYLE**, R, *et al.* Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc*, 2003, 78: 21-33.
54. **LEBIEN**, T. W. Fates of human B-cell precursors. *Blood*, 2000, 96, 9-23 pages.

55. **LE BRICON**, T. Exploration biologique de la protéinurie au laboratoire d'analyses : aspects quantitatifs. *Annales de Biologie Clinique*, 2001, 59(6):701-15.
56. **LIPPERT**, P. Généralités sur les hémopathies malignes : introduction à la pathologie *hématologique*, 2010, 28 pages.
57. **LIU**, Y, *et al.* Mechanisms of selection and differentiation in germinal centers. *Curr Opin Immunol*, 1997, 9, 256-262.
58. **LODÉ**, L, Wuillème, S, Avet-Loiseau, H. « Facteurs pronostiques biologiques dans le myélome multiple ». *Hématologie*, 2005, 11(5) : 346-350.
59. **LOPEZ**, J, *et al.* et limites des dosages sériques et urinaires des chaînes légères libres pour le diagnostic et le suivi des dysglobulinémies monoclonales. *Ann Biol Clin*, 2006, 11 pages.
60. **MANIER**, S, *et al.* Cell autonomous and microenvironmental regulation of tumor progression in precursor states of multiple myeloma. *Curr. Opin. Hematol*, 2016, 23 : 426–433.
61. **MANIER**, S, LELEU, X. Myélome multiple : diagnostic clinique et perspective de traitement. Recommandations de l'International Myeloma Working Group (IMWG). *Immunoanal Biol Spec*, 2011, 12 pages.
62. **MATSUUCHI**, L, Gold, M. R. New views of BCR structure and organization. *Curr Opin Immunol*, 2001, 13, 270-7.
63. **MARSHALL**, *et al.* Regulation of B-cell activation and differentiation by the phosphatidylinositol 3-kinase and phospholipase Cgamma pathway. *Immunol Rev*, 2001, 176, 30-46.
64. **MILNER**, L. A., and Bigas, A. (1999). Notch as a mediator of cell fate determination in hematopoiesis: evidence and speculation. *Blood* 93, 2431-48.
65. **MORGAN**, G, *et al.* The genetic architecture of multiple myeloma. *Nat.Rev.Cancer*, 2012, 12, 335–348.

66. **MOREAU, P, et al.** « Comparison of reduced-dose bortezomib plus thalidomide plus dexamethasone (vTD) to bortezomib plus dexamethasone (VD) as induction treatment prior to ASCT in de novo multiple myeloma (MM): Results of IFM2007-02 study ». *Annual Meeting Proceedings*, 2010, 28: 8014.
67. **MORIO, T, et al.** Ku in the cytoplasm associates with CD40 in human B cells and translocates into the nucleus following incubation with IL-4 and anti- CD40 mAb. *Immunity*, 1999, 11, 339-48.
68. **MOULIN, B, PERALDI, M.** *Néphrologie : Collège Universitaire des Enseignants de Néphrologie, 7^{ème} Édition*. Paris : Ellipses, 2016, 16 pages («collection dirigée par J.-S. Hulot»). ISBN 9782340-013810_001_432.indd
69. **MOUMAS, Eric et al.** Atteintes rénales au cours du myélome multiple et des gammopathies monoclonales. *Hématologie*, 2011 ; 17 (5) : 342-56.
70. **MUSSTA, L, CHOQUETB, S.** Dosage sérique des chaînes légères libres (CLL) d'immunoglobulines : de la biologie à la clinique Immunoglobulin free-lightchains measurement: from biology to clinical diagnosis. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 2006, 270–278.
71. **MYÉLOME CANADA.** *Le myélome et le rein*, 1^{ère} Édition. Canada : Maitriser le Myélome, 2017, 32 pages.
72. **NAIM, U, et al.** Differential and limited expression of mutant alleles in Multiple Myeloma. *Blood*, 2014.
73. **NUTT, S, et al.** The generation of antibody-secreting plasma cells. *Nat. Rev. Immunol*, 2015, 15, 160–171.
74. **OKADA, T, et al.** BCAP: the tyrosine kinase substrate that connects B cell receptor to phosphoinositide 3-kinase activation. *Immunity*, 2000, 13, 817-27.
75. **OUZZIF, Z, BENYAHIA, M, DOGHMI, K.** Myélome non excréteur révélé par un syndrome néphrotique. *Ann Biol Clin*, 2006, 5 pages.

76. **PALUMBO**, *et al.* Système international révisé de mise en scène pour le myélome multiple: un rapport du groupe international de travail sur le myélome. *J Clin Oncol*, 2015, 33 (26): 2863-2869.
77. **PALS**, S, *et al.* Regulation of adhesion and migration in the germinal center microenvironment. *Cell Adhes Commun*, 1998, 6, 111-6.
78. **PASQUIER**, F, *et al.* Place actuelle des inhibiteurs du protéasome dans le traitement du myélome multiple. *Hématologie*, 2006, 12 (1) : 67-76 pages.
79. **POTTIER**, V. Étude du myélome multiple au travers de l'imagerie médicale. *Sciences pharmaceutiques*, 2014, 126 pages.
80. **PREUD'HOMME**, J, *et al.* Monoclonal immunoglobulin deposition disease (Randall type). Relationship with structural abnormalities of immunoglobulin chains. *Kidney Int*, 1994, 46: 965-972.
81. **RAJKUMAR**, *et al.* International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*, 2014, 15(12): 538-548.
82. **ROUX**, S. L'os du myélome multiple : physiopathologie. *Revue du rhumatisme monographies*, 2016, 6 pages.
83. **SFIRIDAKI**, K, *et al.* Angiogenesis-related cytokines, RANKL, and osteoprotegerin in multiple myeloma patients in relation to clinical features and response to treatment. *Mediators Inflamm*, 2011, vol 2011.
84. **SHI**, C. β 2-Microglobulin: emerging as a promising cancer therapeutic target. *Drug discovery today*, 2009, 14: 25-30.
85. **SMITH** , D, YONG, K. Multiple myeloma. *BMJ*, 2013, f3863-f3863 p.
86. **SNAPPER**, C, *et al.* The immunoglobulin class switch: beyond "accessibility". *Immunity*, 1997, 6, 217-23.

87. **TOUAOUSSA, A.** *Aspect clinico-biologique et évolutif du myélome multiple*. Thèse pour l'obtention du diplôme de spécialité en médecine. Fes : université Sidi mohammed Ben Abdellah, 2015, 60 pages.
88. **YOUNES, M, et al.** Les facteurs pronostiques de survie au cours du myélome multiple. *LA TUNISIE MEDICALE*, 2014, Vol 92 (n°06) : 399-405, 7.
89. **WANG, Y, et al.** Cooperation between heparin-binding EGFl like growth factor and interleukin-6 in promoting the growth of human myeloma cells. *Oncogene*, 2002, 21(16):2584-2592.
90. **WUILLEME, S, et al.** Ploidy, as detected by fluorescence in situ hybridization, defines different subgroups in multiple myeloma. *Leukemia*, 2005, 19(2): 275-278.
91. **ZITOUNI, M, et al.** Plan National Cancer centrée sur le malade 2015-2019 : Nouvelle vision stratégique, *AMDS*, 2014, 178 pages.

Annexes

ANNEXE 01 : Critères diagnostiques des gammopathies monoclonales IMWG (Rajkumar *et al.*, 2014).

Gammopathie monoclonale	Atteinte organique	Signe biologique
MGUS	Absence de critère de CRAB.	Ig monoclonale <30 g/l plasmocytose médullaire<10%
Myélome asymptomatique	Absence de critère de CRAB.	Ig monoclonale sérique ≥30 g/l ou urinaire ≥500 mg/24h et/ou plasmocytose médullaire : 10-60% et absence de biomarqueurs suivants de malignité. -plasmocytose ≥60%. -Rtio des CLL≥100. - < 1 lésion focale sur IRM.
MM symptomatique	Présence d'au moins 1 critère de CRAB.	Plasmocytose médullaire ≥10% et/ou présence d'un plasmocytome sur biopsie osseuse ou extra-médullaire. Présence d'une ou plusieurs biomarqueurs suivants de malignité : - Plasmocytose ≥60%. - Rtio des CLL≥100. - < 1 lésion focale sur IRM.

ANNEXE 02: International Staging System (GREIPP *et al.*, 2006).

Etape	Critères	Médianes de survie (mois)
I	β2-microglobuline sérique < 3.5 mg/L Albumine sérique ≥ 3.5 g/dL	62
II	Ni stade I, ni stade III*	44
III	β2-microglobuline sérique ≥ 5.5 mg/L	29
Il existe deux catégories de stade II β2-microglobuline sérique< 3.5mg/L mais Albumine sérique < 3.5 g/dL ; Ou β2-microglobuline sérique de 3.5 à < 5.5 mg/L indépendamment du taux d'albumine sérique.		

ANNEXE 03 : Classification de Salmon et Durie (Charlot-lambrecht et al., 2011).

Cote	Critères	Nombre de cellules myélomateuses
1. Cotation du stade du myélome multiple		
I	Tous les critères suivants sont présents : – Hémoglobine > 10 g/100 mL – Calcémie < 2,60 mmol/L – Structure osseuse normale ou lésion solitaire – Taux du composant sérique : • IgG < 50 g/L • IgA < 30 g/L – Taux du composant monoclonal urinaire < 4 g/24 h	< $0,6 \cdot 10^{12}/m^2$ (faible masse tumorale)
II	Ni ceux du I, ni ceux du II	> $0,6 \cdot 10^{12}/m^2$ < $1,2 \cdot 10^{12}/m^2$ (masse tumorale intermédiaire)
III	Un ou plusieurs des suivants : – Hémoglobine < 8,5 g/100 mL – Calcémie > 3 mmol/L – lésion osseuse – Taux du composant monoclonat sérique : • IgG > 70 g/L • IgA > 50 g/L – Taux du composant monoclonal urinaire > 12 g/24 h	> $1,2 \cdot 10^{12}/m^2$ (haute masse tumorale)
2. Cotation de l'insuffisance rénale (Le stade est complété d'une sous-classification en fonction de l'atteinte rénale)		
A	Créatinémie < 170 $\mu\text{mol/L}$	
B	Créatinémie $\geq 170 \mu\text{mol/L}$	

ANNEXE 04 : Unité immuno-chimie.



Récupération du sérum après la centrifugation et classement des tubes.

ANNEXE 05 : L'appareillage utilisé au cours de notre étude.

a. Microlab 300 : Spectrophotomètre.



b. Le Capillrys ® Helena : Electrophorèse.



c. SAS-3 : Immunofixation.



d. SAS-4 : Immunofixation.



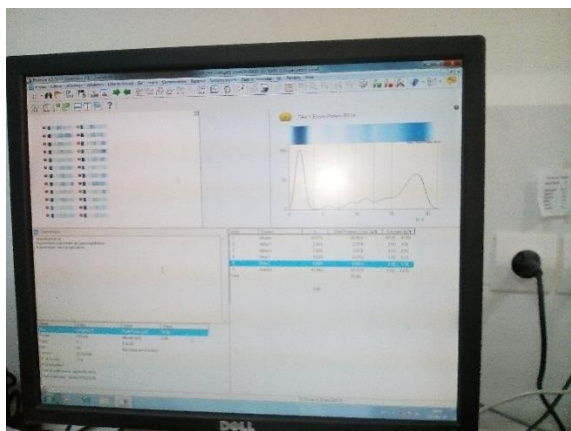
e. SPA plus : Turbidimétrie.



f. Porte échantillons sérique de la SPA.



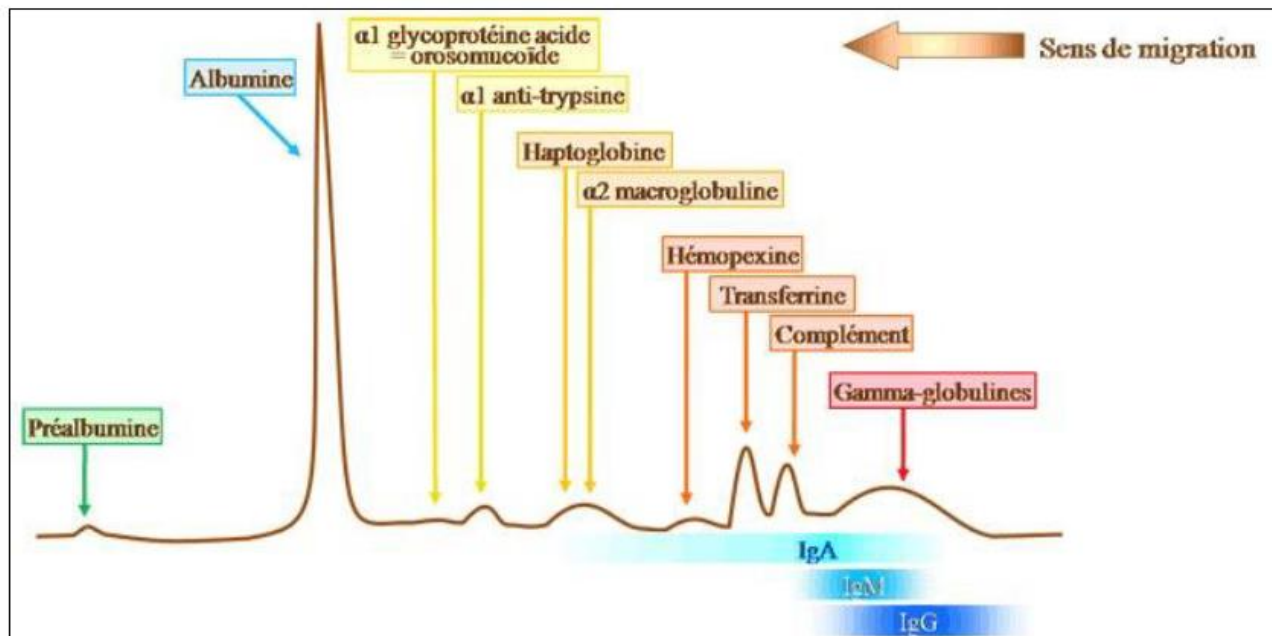
g. logiciel d'électrophorèse.



h. scan aire des membrane d'IF et EPP.



ANNEXE 06 : Les protéines migrant dans chacune des fractions.



ANNEXE 07 : Matériels et les réactifs utilisés.

Matériel	Réactifs
Microlab 300 : Spectrophotomètre	-Réactif (rouge de pyrogallol, molybdate de sodium, succinate, detergent) -Etalon de protéine (urines), albumine bovine.
V8 E-CLASS Helena: Électrophorèse.	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tampon alcalin (pH 9,9) ➤ Solution de lavage ➤ Diluant
SAS-3/SAS-4 : Immunofixation.	Kit HELENA : - Gel d'agarose - Gel fixateur (Rep-Prep) - Colorant violet acide - Solution décolorante - Solution de lavage - Antisérums IFE (anti-IgA, anti-IgG, anti-IgM, anti-kappa, anti-lambda).
BN ProSpec : Néphélométrie laser	β 2m : - N Latex réactif β 2m.
SPA plus : turbidimétrie.	- Anti chaîne légère libre sérique λ . - Anti chaîne légère libre sérique κ .



Porte échantillon urinaire SAS-3-



Réactifs de **Microlab 300**

Annexe 08 : dilution de sérum pour l'immuno-fixation.

Concentration	Dilutions		Volumes	
	SP	Autres	SP	Autres
≤3g/l	1/2	1/2	120/10	/
4g/l-7.5g/l	1/3	1/4	15/30	50/150
7.5g/l-9g/l	1/3	1/5	15/30	40/160
9g/l-11g/l	1/4	1/5	20/60	40/160
11g/l-13g/l	1/5	1/7	10/40	30/180
13g/l-18g/l	1/5	1/10	10/40	20/180
18g/l-25g/l	1/6	1/12	10/50	20/220
25g/l-35g/l	1/8	1/15	10/70	20/280
35g/l-45g/l	1/8	1/18	10/70	10/170
45g/l-55g/l	1/10	1/20	5/45	10/190
>55g/l	1/15	1/25	5/70	10/240

Annexe 9 : Fiche de gammopathie monoclonale

CHU BENI MESSOUS

Laboratoire Central

Unité d'immunologie

Fiche de gammopathie monoclonale :

Nom –Prénom :

Date de 1^{ère} Consultation :

Age :

Sexe :

Origine :

Service :

Paramètres	Oui	Non	Paramètres	Valeur
Douleurs osseuses			VS	
Asthénie			Calcémie	
Perte de poids			Hémoglobine	
Adénopathie			GB	
Hépatomégalie			Plaquettes	
Splénomégalie			Créatinine	
Signes d'hyperviscosité			Urée	
Atteinte rénale			Plasmocytose	
Atteinte cardiaque				
Atteinte vasculaire				
Signes neurologiques				
Atteinte cutanée				
Atteinte endocrinienne				
Infections à répétitions				

Paramètres	Oui	Non		
Plasmocytome			Localisation	
Amylose			Localisation	
Maladie de dépôt			Localisation	
Cryglobulinémie			Localisation	
Maladie de système			Localisation	
Infection chroniques			Localisation	
Tumeurs/cancer			Localisation	
Déficit immunitaire			Localisation	
Plasmocytose médullaire			Localisation	

Radiographie du squelette :

Diagnostique et Traitement :

Remarque :

Signature du médecin