

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET DE MICROBIOLOGIE



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de master académique en sciences biologiques
Option : Biochimie appliquée
Présenté et soutenu le 18 juillet 2016

***Aspects épidémiologiques et
biologiques du myélome multiple à
IgA : À propos de 31 cas colligés au
CHU NEDIR Mohammed de
Tizi-Ouzou***

Réalisé par : - Melle ABES Sandra
- Mr CHEBLI Belkacem

Proposé et dirigé par :

- Mr TOUDERT Amar Assistant praticien en Immunologie à l'UMMTO
- Mr HADJ KACI Amar Maître assistant classe (A) à l'UMMTO

Devant le jury :

Président :

- Mr BOUAZZA Belaid Maître de conférences classe (B) à l'UMMTO

Examineurs :

- Mr SEBBANE Hillal Maître assistant classe (A) à l'UMMTO
- Mr YEZID Hocine Maître assistant classe (A) à l'UMMTO

2015 - 2016

Remerciements

Que l'aboutissement de ce mémoire témoigne de toute notre gratitude et de notre profond respect.

*Il nous est agréable de remercier notre promoteur Dr. **TOUDERT.A**, Assistant praticien en Immunologie à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, ainsi que notre co-promoteur Mr **HADJ KACI. A.**, Maître assistant à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, qui nous ont fait l'honneur d'accepter de diriger ce travail ; Votre grande connaissance, votre rigueur, votre pertinence et votre esprit critique demeureront pour nous une référence.*

A notre Maître et Juge,

On tient à exprimer nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance à monsieur Mr **BOUAZZA. B**, Maître de conférences à l'UMMTO, Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider notre jury. Veuillez trouver ici, Cher Maître, l'expression de nos sincères remerciements.

*Nous adressons nos vifs remerciements au Dr **DAHMANI** Maître- assistante en Biochimie à l'UMMTO et médecin-chef de Service du Laboratoire de Biochimie du CHU de Tizi-Ouzou, pour nous avoir facilité l'accès à la pratique de notre travail de recherche au sein du laboratoire.*

*Nous remercions également Dr **OUANES.O** Maître- assistant et médecin chef de service d'Hématologie, qui nous a apporté patiemment ses connaissances et son savoir, Nous vous prions de croire en notre profond respect.*

*Nos vifs remerciements s'adressent à Mr **YEZID.H** et à Mr **SEBBANE. H** Maîtres assistants à l'UMMTO, vous nous faites un grand honneur en acceptant d'examiner notre travail, Nous gardons de vos enseignements un agréable souvenir et vous remercions des références scientifiques et humaines que vous représentez pour chaque étudiant, nous vous témoignons notre sincère reconnaissance et profonde gratitude.*

À tout le service de biochimie du CHU de TIZI OUZOU, médecins, biologistes, techniciens ... nous vous somme très reconnaissants de nous avoir fait partager vos connaissances et votre expérience. Apprendre à vos côtés a été un réel plaisir. Nous garderons un excellent enseignement de nos stages dans le service.

Nous vous remercions tous très sincèrement.

Dédicaces

Nous dédions ce présent mémoire :

À nos parents et à nos frères et sœurs

Vous avez été à nos côtés tout au long de ces années, avec un amour et une patience sans faille : toujours présents, toujours disponibles, toujours à l'écoute. Chacun à votre manière, vous nous avez soulevés et permis d'être indépendants, forts, courageux et sages. Vous nous avez accompagnés dans nos choix, motivé dans les moments de doute, soutenus dans les difficultés. Vous avez toujours cru en nous, et vous avez su nous donner confiance. Difficile d'exprimer tout l'amour, l'admiration et la reconnaissance que nous avons pour vous... De tout mon cœur, je vous dis un immense merci, et je vous dédie ce mémoire.

À nos enseignants

Avec toute notre reconnaissance, nous vous prions d'agréer, chers maîtres, l'expression de notre immense gratitude pour le temps, l'attention, l'intérêt que vous avez bien voulu nous accorder.

À tous nos amis et à nos camarades de la promotion 2015-2016

SOMMAIRE

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Glossaire

Introduction 1

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I LES IMMUNOGLOBULINES

1.1. Définition..... 3

1.2. Structure et classification..... 3

1.3. Synthèse..... 4

1.4. Caractéristique 5

1.5. Physiologie de l'IgA humaine 6

1.6. Immunoglobulines monoclonales..... 8

CHAPITRE II MYELOME MULTIPLE : GENERALITE

2.1. Définition..... 10

2.2. Epidémiologie..... 10

2.3. Etiologie..... 10

2.4. Oncogenèse..... 11

2.5. Physiopathologie..... 12

CHAPITRE III DIAGNOSTIC

3.1. Diagnostique positif..... 17

3.2. Signes cliniques 18

3.3. Signes radiologiques 21

3.4. Signes biologiques..... 22

3.4.1. Signes biochimiques 23

3.4.2. Signes immunologiques 25

3.5. Anatomocytopathologie 26

SOMMAIRE

3.5.1. Myélogramme.....	26
3.5.2. L'immunophénotypage	27
3.5.3. Cytogénétique.....	28
3.6. Les différents types du MM.....	28
3.6.1. Formes immunochimique.....	28
3.6.2. Formes cliniques	29
3.7. Diagnostic différentiel	29
3.7.1. Gammopathie monoclonale de signification indéterminée	29
3.7.2. Macroglobulinémie de Waldenström.....	30
3.8. Pronostique	30
CHAPITRE IV Conduite immunologique pratique devant un myélome multiple	
4.1. Conduite à tenir immunologique devant la suspicion d'un MM.....	32
4.1.1. Étape de recherche du composant monoclonal.....	32
4.1.2. Etape d'identification du composant monoclonal.....	35
CHAPITRE V : TRAITEMENT DU MYELOME MULTIPLE	
5.1. Traitement et perspectives.....	39
5.1.1. Traitements spécifiques.....	39
5.1.2. Traitement intensif et greffes.....	41
5.1.3. Traitements des symptômes et des complications.....	42
PARTIE EXPERIMENTALE	
CHAPITRE VI : MATERIEL ET METHODES	
6.1. Type de l'étude.....	44
6.2. Objectifs de l'étude.....	44
6.3. Matériel et Méthodes.....	44
6.3.1. Patients.....	44
6.4. Méthodes.....	44
6.4.1. Démarche diagnostique au laboratoire de Biochimie du CHU de TO.....	44
6.5. Les techniques analytiques :	46
6.5.1. Prélèvement et conservation des échantillons.....	46
6.5.2. Dosage de la protéinémie.....	46
6.5.3. Electrophorèse des protéines sérique	47

SOMMAIRE

6.5.4. Immunotypage par immunosoustraction.....	51
6.5.5. Dosage du calcium dans le sang	52
6.5.6. Dosage de l'urée.....	53
6.5.7. Dosage de la créatinine	53
6.5.8. Dosage de la vitesse de sédimentation ou VS.....	54
6.5.9. Dosage de l'hémoglobine	54
6.5.10. Les outils statistiques	54

CHAPITRE VII RESULTATS

7.1. Aspect épidémiologique.....	55
7.1.1. Répartition des patients selon l'âge :	55
7.1.2. Répartition des patients selon le sexe :.....	55
7.1.3. Distribution des patients en fonction du sexe et des groupes d'âges :	56
7.1.4. Répartition des patients selon le service d'admission.....	56
7.2. Paramètres immunologiques	57
7.2.1. Les résultats de l'EPP sanguins.....	57
7.3. Paramètres biochimiques.....	60
7.4. Paramètres anatomocytopathologiques.....	63
7.4.1. Répartition des patients selon la plasmocytose	63
7.5. Etude de la distribution des fréquences des différents paramètres biologiques en fonction de la plasmocytose et de la concentration du CM	63
7.6. Etude comparative des deux sous populations de patients, MM à IgG vs MM à IgA :	65
7.7. Apport du traitement des échantillons sériques par le β mércaptoéthanol (BME) dans l'exploration du MM.....	67

CHAPITRE VIII DISCUSSION

8.1 Discussions	68
Conclusion	73

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des Abréviations

Liste des abréviations		
Ac : Anticorps	IFN-γ : interféron-gamma	NF-KB : Nuclear Factor- κ B
Ag : Antigène	IL : interleukine	NFS : Formule Numéraire sanguine
BCR : Récepteur des Cellules B	IM :Immunoglobinoopathies monoclonales	NK : Natural-Killer
BOM : Biopsie Ostéo-Médullaire	IMWG : International Myeloma Working Group	NKCF : NK Cytotoxic factor
CM : Composant Monoclonal	IR : insuffisance rénale	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
CHU : Centre Hospitalo-Universitaire	IRM : Imagerie par Résonance Magnétique	OPG : ostéoprotégérine
CH : Chaîne lourde.	ISS : International Staging System	PBJ : protéine de Bence Jones
CLL : chaînes légères libres	IT : Immunotypage	pH : potentiel Hydrogène
CL : chaînes légères	La protéine M : protéine monoclonale	PM : poids moléculaire
CRP : Protéine C-réactive	LB : lymphocytes B.	RE : réticulum endoplasmique
EPO : érythropoïétine	LDH : Lactate déshydrogénase	RANKL : Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand.
EPP : Electrophorèses des Protéines	MGG : May-Grünwald Giemsa	sIgA : IgA sécrétoire
Fab : Fragment antigen binding	MGUS : Monoclonal gammopathy of undetermined significance	SWOG : SOUTH- WEST - ONCOLOGY –GROUP
Fc : Fragment cristallisable	MIP : Protéine Inflammatoire des Macrophage	TP : Taux de Protide.
FGF : fibroblast growth factor	MM : myélome multiple	TDM : Tomodensitometrie
FISH : technique d'hybridation in situ en fluorescence	NAD : dinucléotide d'adénine nicotinamide	TGF : Tumor growth factor
FNS : Formule de numération sanguine.	NADH : Nicotinamide dinucléotide	TNF : Facteur de nécrose tumorale
GM : Gammapathies monoclonales		Trail : Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand
GMSI : gammapathie monoclonale de signification indéterminée		VEGF : vascular endothelial growth factor
Hb : Hémoglobine		VS : Vitesse de sédimentation
IEP : Immunoélectrophorèse des protéines		β2M : Beta 2 microglobuline
IF : immunofixation		

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : SCHEMA REPRESENTATIF DE LA STRUCTURE DE BASE D'UNE MOLECULE D'IMMUNOGLOBULINE (ICI IGG)	4
FIGURE 2 : REPRESENTATION DE LA POLYMERISATION DE L'IGA SERIQUE	7
FIGURE 3 : SCHEMA REPRESENTATIF DE LA STRUCTURE DE L'IGA SECRETOIRE HUMAINE	8
FIGURE 4 : ELECTROPHORESE DES PROTEINES SERIQUES	9
FIGURE 5 : MODELE DE PROGRESSION DES DIFFERENTES HEMOPATHIES PLASMOCYTAIRES.	12
FIGURE 6 : MICROENVIRONNEMENT MYELOMIQUE	14
FIGURE 7 : BALANCE OPG/RANK-L	15
FIGURE 8 : NEPHRON MONTRANT LA FILTRATION ET L'EXCRETION DES CLL	19
FIGURE 9 : RADIOGRAPHIES STANDARD METTANT EN EVIDENCE DES LESIONS OSTEOLYTIQUES CRANIENNES (A), DES OS LONGS (B : HUMERUS ; C : FEMUR)	21
FIGURE 10 : ASPECT EN IRM D'UNE COMPRESSION MEDULLAIRE	22
FIGURE 11 : SCANNER DU RACHIS LOMBAIRE, LACUNE DE TH12	22
FIGURE 12 : FROTTIS SANGUINS COLORES AU MGG, ROULEAUX ERYTHROCYTAIRE.	23
FIGURE 13: ASPECT MORPHOLOGIQUE DES PLASMOCYTES.	27
FIGURE 14 : PLASMOCYTES TUMORAUX D'UN MM EXPRIMANT CD138	27
FIGURE 15 : EPP SERIQUES (A- PROFIL NORMAL. B- PROFIL DE MM).	33
FIGURE 16 : PLAQUE D'IEP POUR LE TYPAGE DES IGM	375
FIGURE 17 : IMMUNOFIXATION DES PROTEINES SERIQUES	36
FIGURE 18 : RESULTAT DE L'IMMUNOTYPAGE PAR IMMUNOSOUSTRACON SUR LE CAPILLARYS REVELANT UNE IG MONOCLONALE IGG/K	37
FIGURE 19: SCHEMA ILLUSTRANT LA DEMARCHE DIAGNOSTIQUE POUR LA MISE EN EVIDENCE D'UNE IG MONOCLONALE DANS LE SERUM AU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE DU CHU DE TIZI OUZOU.	45
FIGURE 20: AUTOMATE ARCHITECT CI 4100 DU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE DU CHU DE TIZI OUZOU.	45
FIGURE 21 : AUTOMATE CAPILLARYS SEBIA DU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE DU CHU DE TIZI OUZOU	48
FIGURE 22 : PRINCIPE DE L'ELECTROPHORESE CAPILLAIRE.	49
FIGURE 23 : TRACE ELECTROPHORETIQUE ILLUSTRANT LES DIFFERENTES FRACTIONS PROTEIQUES APRES INTEGRATION DENSITOMETRIQUE.	50
FIGURE 24 : EXEMPLE D'UN PIC MONOCLONAL SUR UN TRACE ELECTROPHORETIQUE.	51

LISTE DES FIGURES

FIGURE 25 : RESULTAT DE L'IMMUNOTYPAGE PAR IMMUNOSOUSTRACON SUR LE CAPILLARYS REVELANT UN MM IGG/ KAPPA.	52
FIGURE 26 : REPARTITION DES PATIENTS SELON L'AGE.....	55
FIGURE 27 : REPRESENTATION GRAPHIQUE DE LA REPARTITION DES PATIENTS EN FONCTION DU SEXE ET DES TRANCHES D'AGE.....	56
FIGURE 28 : REPRESENTATION GRAPHIQUE DE LA REPARTITION DES PATIENTS SELON LA ZONE DE MIGRATION DE CM	57
FIGURE 29 : Exemples de profils pour chaque zone de migration.....	57
FIGURE 30 : profils présentant des pics monoclonaux (A) associé à une hypogammaglobulinémie polyclonale et (B) non.....	58
FIGURE 31 : REPRESENTATION GRAPHIQUE DE LA REPARTITION DES PATIENTS SELON LA CONCENTRATION DU CM	59
FIGURE 32 : REPRESENTATION GRAPHIQUE DE LA REPARTITION DES PATIENTS SELON LE TAUX DE PROTIDES	60
FIGURE 33 : REPRESENTATION GRAPHIQUE DE LA REPARTITION DES PATIENTS SELON LA VS..	61
FIGURE 34 : REPRESENTATION GRAPHIQUE DE LA REPARTITION DES PATIENTS SELON LE TAUX D'HEMOGLOBINE.....	62
FIGURE 35 : REPRESENTATION GRAPHIQUE DE LA CORRELATION ENTRE LA PLASMOCYTOSE MEDULLAIRE ET DIFFERENTS PARAMETRES BIOLOGIQUES.....	64
FIGURE 36 : REPRESENTATION GRAPHIQUE DES CORRELATIONS SIGNIFICATIVES	65
FIGURE 37 : ELECTROPHORESE DES PROTEINES SERIQUES DU PATIENT A.B.	68
FIGURE 38 : RESULTAT DE L'IMMUNOTYPAGE DU PATIENT A.B.....	68

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU I : PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES DIFFERENTES CLASSES D'IG.....	5
TABLEAU II : HETEROGENEITE DES IMMUNOGLOBULINES (VARIATIONS ANTIGENIQUES).....	6
TABLEAU III : CRITERES DIAGNOSTIQUES DU MYELOME MULTIPLE SELON IMWG.....	17
TABLEAU IV : LES CRITERES D'ATTEINTES DES SYSTEMES CRAB	17
TABLEAU V : CLASSIFICATION DU MYELOME MULTIPLE SELON DURIE ET SALMON	31
TABLEAU VI : CLASSIFICATION DU MYELOME MULTIPLE SELON L'ISS.....	31
TABLEAU VII : REACTIFS FOURNIS AVEC LE SYSTEME CAPILLARYS 2.....	49
TABLEAU VIII : VALEURS DE REFERENCE DU LABORATOIRE POUR CHAQUE FRACTION	50
TABLEAU IX : REPARTITION DES PATIENTS SELON LE SEXE	55
TABLEAU X : REPARTITION DES PATIENTS SELON LE SERVICE D'ADMISSION.	56
TABLEAU XI : REPARTITION DES PATIENTS SELON L'HYPOGAMMAGLOBULINEMIE	58
TABLEAU XII : REPARTITION DES PATIENTS SELON LE TYPE DE CHAINE LEGERE	59
TABLEAU XIII : REPARTITION DES PATIENTS SELON LE TAUX D'ALBUMINE.....	60
TABLEAU XIV : RESULTATS DE L'EXPLORATION DU TAUX DE CALCEMIE	61
TABLEAU XV : RESULTATS DE L'EXPLORATION DE LA FONCTION RENALE	62
TABLEAU XVI : RESULTATS D'EXPLORATION DE LA PLASMOCYTOSE MEDULLAIRE.	63
TABLEAU XVII : ETUDE COMPARATIVE DE DEUX POPULATIONS DE MM A IG G VS MM A IGA.....	66

GLOSSAIRE

GLOSSAIRE

Agent alkylant : Agent chimiothérapeutique comme le melphalan ou le cyclophosphamide. Le terme « alkylant » se rapporte à la manière dont ces agents contribuent au « cross-link » de l'ADN des cellules myélomateuses et bloquent la division des cellules.

Agent antinéoplasique : Médicament empêchant, tuant ou bloquant la croissance et le développement des cellules cancéreuses.

Albumine : Protéines simples hydrosolubles présentes dans le sérum sanguin et le sérum de nombreux autres tissus animaux ou végétaux.

Allogreffe : consiste en la transplantation de tissus, d'organes ou de cellules entre individus non-identiques, appartenant à une même espèce.

Angiogenèse : Formation de vaisseaux sanguins, accompagnant généralement le développement de tissus malins dont le myélome.

Apoptose : Processus cellulaire normal impliquant des séries d'événements programmés conduisant à la mort d'une cellule.

Autogreffe : Le donneur et le receveur sont le même individu. Les tissus, les organes ou les cellules transplantées ne sont pas rejetés.

Protéine de Bence Jones : Protéine du myélome présente dans l'urine elle est formée par le passage des chaînes légères dans les reins. La protéine de Bence Jones est exprimée en grammes par 24 heures. La présence de toute protéine de Bence Jones est anormale.

Biopsie de la moelle osseuse : Prélèvement, au moyen d'une aiguille, d'un échantillon de tissu osseux. Les cellules sont contrôlées pour déterminer si elles sont cancéreuses.

Lymphocytes B : Leucocytes se développant en plasmocytes présents dans la moelle osseuse et qui produisent des anticorps.

Cellules souches : Cellules immatures à partir desquelles toutes les cellules sanguines se développent, dont les hématies, les leucocytes et les plaquettes.

Chimiothérapie : Traitement du cancer avec des médicaments tuant toutes les cellules à division rapide.

Cryoglobuline : Les cryoglobulines sont un groupe particulier d'anticorps ayant la propriété de précipiter à basse température.

GLOSSAIRE

Cytokine : Substance sécrétée par les cellules du système immunitaire, stimulant la croissance et l'activité d'un type particulier de cellules.

Densitomètre : est un système de lecture automatique qui mesure le résultat de la migration. Il donne un profil sous forme de pics obtenus en fonction de l'intensité de la coloration et de la longueur de la bande ; ce profil est appelé électrophorégramme.

Dialyse : Lorsque les reins d'un patient sont incapables de filtrer le sang, le sang est nettoyé en le faisant passer dans une machine de dialyse.

Érythrocytes : Hématies (globules rouges).

Érythropoïétine : Hormone produite par les reins. Les patients atteints d'une insuffisance rénale ne produisent pas suffisamment d'érythropoïétine et peuvent devenir anémiques.

Fracture pathologique : Lésion d'un os généralement causée par le cancer ou un état dû à une maladie.

Hypercalcémie : Niveau de calcémie sérique supérieur à la normale.

Immunodéficience : **Diminution** des capacités de l'organisme à combattre les infections et les maladies.

Inhibiteurs de l'angiogénèse : Composants ayant pour action de supprimer l'alimentation sanguine des tumeurs.

IRM : Test de diagnostic utilisant l'énergie magnétique plutôt que l'énergie des rayons X, pour produire des images détaillées des organes et de la structure intérieure du corps en deux ou en trois dimensions.

Leucocytes (globules blancs) : Terme général désignant une catégorie de cellules dont le rôle est de combattre les germes qui envahissent l'organisme, les infections et les allergènes. Ces cellules se développent dans la moelle osseuse puis migrent vers d'autres parties du corps. Les différentes catégories de leucocytes sont les neutrophiles, les granulocytes, les lymphocytes et les monocytes.

Leucopénie : Faible taux de leucocytes.

Moelle osseuse : tissu mou et spongieux situé au centre des os, qui produit les leucocytes, les hématies et les plaquettes.

GLOSSAIRE

Neutropénie : Taux réduit de neutrophiles.

NFκB : est un facteur de transcription dont l'activation est nécessaire dans de nombreux aspects de la genèse tumorale, notamment la croissance et la survie cellulaires, l'angiogénèse, les interactions entre les cellules et les métastases

Numération sanguine : Quantité d'hématies, de leucocytes et de plaquettes dans un échantillon de sang.

Ostéoblaste : Cellule produisant l'ostéoïde, qui se minéralise avec le calcium pour former un nouvel os dur.

Ostéoclaste : Cellule présente dans la moelle osseuse à la jonction de la moelle osseuse et de l'os, qui résorbe ou dissout l'os ancien.

Ostéoïde : Substance protéinique se minéralisant avec le calcium pour former des os durs

Plasmaphérèse : Processus consistant à retirer certaines protéines du sang

Plasmocytes : Leucocytes spécifiques produisant des anticorps.

Pronostic : Issue ou déroulement projeté d'une maladie

Protéasome : est un complexe moléculaire dont la fonction est de dégrader des protéines impliquées dans diverses fonctions cellulaires telles que la viabilité, la différenciation et la réplication.

Protéine de Tamm-Horsfall : La glycoprotéine de Tamm-Horsfall, principale protéine urinaire, appartient à la famille des protéines ancrées à la membrane par un groupement glycosyl-phosphatidyl-inositol (GPI). Elle est présente dans les glomérules rénaux .elle possède des propriétés d'agrégation, elle pourrait jouer un rôle important dans la réabsorption de l'eau et des électrolytes et influencer la perméabilité de la branche large de l'anse de Henlé. Récemment, elle a été impliquée dans les néphropathies tubulo-interstitielles.

Paraprotéine : protéine monoclonale

Radiothérapie : Traitement aux rayons X, rayons gamma ou électrons pour détériorer ou tuer les cellules malignes.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le myélome multiple est une hémopathie maligne caractérisée par la prolifération d'un clone de plasmocyte envahissant la moelle hématopoïétique. Il est précédé d'un état prémyélomateux nommé « gammopathie monoclonale d'origine indéterminée » ou d'apparence bénigne (terme anglo-saxon MGUS), relativement fréquentes dans la population générale (0,16 %), elles évoluent en MM symptomatique soit un risque 45 fois supérieur à la normale (MANIER & LELEU, 2011).

Le MM est responsable dans les pays occidentaux d'environ 1 % des décès par cancer et de 15 % des tumeurs hématologiques (BARILLE-NION & BATAILLE, 2003).

Bien que l'étiologie exacte du MM demeure insaisissable, notre compréhension des événements physiopathologiques conduisant à l'émergence du clone plasmocytaire malin est de plus en plus claire.

Sur le plan diagnostique, et devant la variété de signes cliniques et d'anomalies biologiques accompagnant cette pathologie, le groupe IMWG a mis en place des critères permettant son diagnostic positif.

Le plasmocyte malin est à l'origine de la production des immunoglobulines monoclonales, détectables au niveau du sang et/ou urines; La détection de cette immunoglobuline monoclonale constitue la base du diagnostic immunologique de cette maladie. Selon le type de l'immunoglobuline monoclonale produite, le MM est classé en : MM à IgG (Le plus fréquent) suivi du MM à IgA et autres (MANIER & LELEU, 2011).

De nos jours, la prévalence des IM est importante. Elle a une explication évidente, liée au vieillissement de la population, à la systématisation de l'électrophorèse des protéines sériques et à l'amélioration des techniques du diagnostic biologique en termes de rapidité, de fiabilité, de sensibilité et de facilité d'interprétation pour le biologiste. En effet les différentes techniques électrophorétiques utilisées représentent un outil important dans la mise en évidence mais également dans le typage de l'Ig monoclonale (SADOUKE, 2009).

Le MM à IgA (Le deuxième en termes de fréquence) est une entité particulière :

Sur le plan clinique, Le MM à IgA est associé à des manifestations cliniques diverses (comme le syndrome d'hyper viscosité, néphropathie à IgA... etc.) ; Sur le plan biologique il est décrit associé à plus de perturbations biologiques (Atteinte rénale, hypercalcémie, hypo

INTRODUCTION

albuminémie) ; Et sur le plan pronostic, le MM à IgA, est de mauvais pronostic, selon plusieurs études.

L'objectif principal de notre étude est d'établir un profil biologique (Immunologique, biochimique et hématologique) des patients atteints de MM à IgA explorés au niveau du laboratoire de Biochimie du CHU de Tizi Ouzou.

Une première partie est consacrée à une revue de la littérature et une seconde partie présente notre mode opératoire, ainsi que les résultats de l'analyse d'une cohorte de 31 patients atteints de MM à IgA explorés au Laboratoire central du CHU de Tizi-Ouzou.

**SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE I

LES

IMMUNOGLOBULINES

Le plasmocyte est la cellule terminale de la différenciation lymphocytaire B. Il est, avec les lymphocytes B mémoires, l'aboutissement du processus de sélection et de maturation des cellules B spécifiques d'un antigène. Les lymphocytes B naïfs sont produits dans la moelle osseuse, transitent par le sang périphérique et vont, dans les organes lymphoïdes secondaires, se différencier au contact de l'antigène en lymphocyte B mémoire ou en plasmocyte. Le plasmocyte migre ensuite vers la moelle osseuse pour se différencier en plasmocyte mature synthétisant en grande quantité une protéine extrêmement spécialisée, l'immunoglobuline (Ig), effecteur de la réponse immune humorale (MORLON, 2010).

1.1. Définition

Les immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines, médiateurs de l'immunité humorale ayant une activité d'anticorps (Ac) en se liant spécifiquement à l'antigène (Ag) qui a provoqué leur synthèse par des lymphocytes B activés. Les immunoglobulines sont présentes principalement sous forme circulantes et soluble dans le sérum à une concentration de 15g/L environ et dans les sécrétions des muqueuses; ou présentes sous forme membranaire comme élément du récepteur de l'Ag à la surface des cellules B (BCR) (KOLOP, 2009).

1.2. Structure et classification

Les Ig sont formées de quatre chaînes polypeptidiques groupées en deux paires identiques, d'une part deux chaînes lourdes dites H, pour "heavy", de 50 kD, d'environ 450 à 600 acides aminés et comportant trois domaines constants (CH) et un domaine variable (VH), d'autre part deux chaînes légères dites L, pour "light", d'environ 25 kD, de 210 à 220 acides aminés et comportant un domaine constant (CL) et un domaine variable (VL).

Par ailleurs la partie variable définit le Fab (Fragment antibody) et la partie constante des chaînes lourdes définit le fragment Fc (Fragment cristallisable) (BAKRI, 2012).

Les chaînes lourdes et les chaînes légères sont reliées entre elles par un nombre variable de ponts disulfures assurant une flexibilité de la molécule. Ces chaînes forment une structure en Y et constituent approximativement par repliement des domaines globulaires de 110 acides aminés (Figure 1).

Toutes les Ig, en dépit de leur très grande hétérogénéité, sont bâties sur un modèle de base commun, symétrique, celui du monomère IgG.

Les chaînes légères sont communes à l'ensemble des classes d'Ig, mais on en distingue deux types antigéniquement différents: le type kappa (κ) et le type lambda (λ) qui peuvent se

combiner avec n'importe quel type de chaîne lourde. Dans une molécule donnée d'Ig les deux chaînes légères sont toujours du même type, il n'y a jamais de molécules hybrides, même dans les Ig monoclonales produites par des plasmocytes malins (ROITT *et al*, 1986).

Les chaînes lourdes sont au contraire spécifiques pour chaque classe d'Ig: cinq isotypes (gamma [γ], alpha [α], mu [μ], delta [δ] et epsilon [ϵ]) définissent respectivement les cinq classes d'Ig: IgG, IgA, IgM, IgD et IgE, par ordre de concentration plasmatique. Chaque classe est associée soit à une chaîne légère kappa soit à une chaîne légère lambda. Certaines classes sont divisées en sous classes comme pour les IgG (IgG1 à IgG4) et les IgA (IgA1 et IgA2) en fonction de légères différences en acides aminés présentes dans la région constante des chaînes lourdes (DENIS *et al*, 2012).

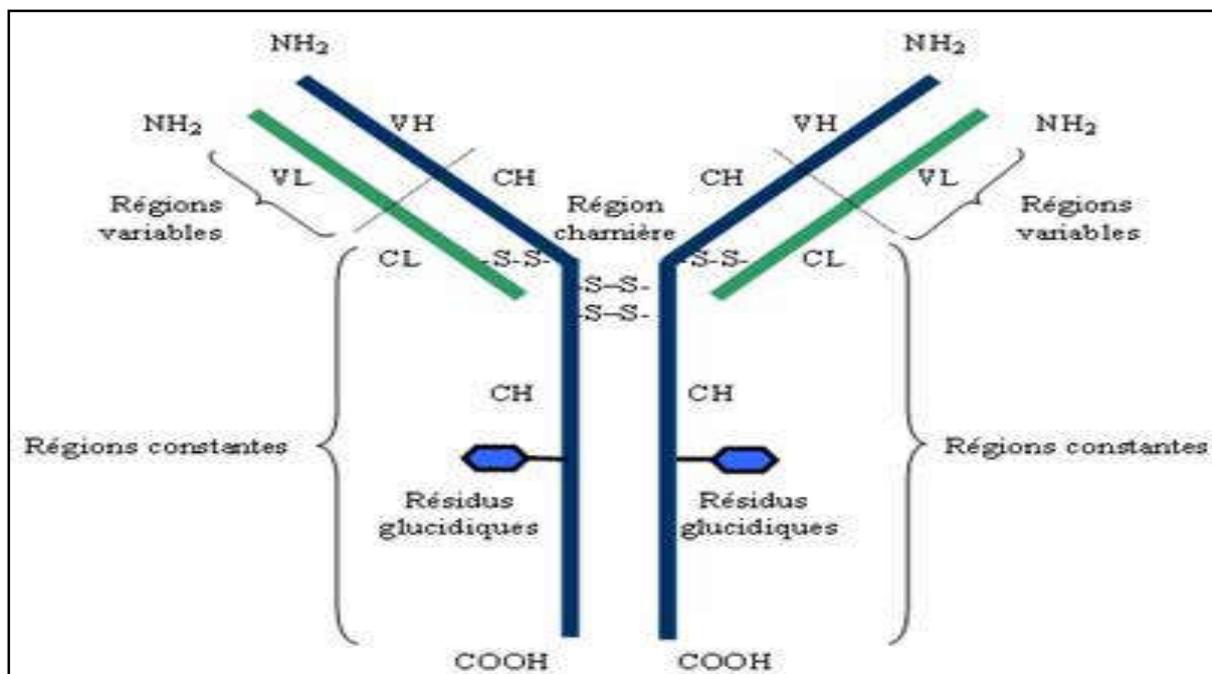


Figure 1 : Schéma représentatif de la structure de base d'une molécule d'immunoglobuline (ici IgG) (BOUMENDJEL, 2012)

1.3. Synthèse

Les Ig sont synthétisées et secrétées par des plasmocytes résultant de la maturation et différenciation des lymphocytes B suite à la reconnaissance de l'Ag. Leur synthèse obéit aux règles générales de la synthèse des protéines. Les chaînes d'Ig transitent par le réticulum endoplasmique ou la glycosylation a lieu et se poursuit dans l'appareil de Golgi. Les Ig achevées quittent le plasmocyte par un processus de pinocytose inverse (BAKRI, 2012).

1.4. Caractéristique

On distingue chez la plupart des mammifères cinq classes d'immunoglobulines : IgG, IgA, IgM, IgD, et IgE. Elles diffèrent par leur composition en acides aminés et en sucres et par conséquent par leur masse moléculaire et leur charge. A ces différences entre les classes s'ajoute l'hétérogénéité des sous-classes à l'intérieur de chaque classe (Tableau I) (DONVAL, 2011).

Tableau I: Principales caractéristiques des différentes classes d'Ig (DONVAL, 2011).

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Masse moléculaire (kDa)	150	160	900	185	200
Sous classe	G1 à G4	A1 et A2	1	1	1
Nombre de sous unités	1	1 ou 2	5	1	1
% totale des Ig	75	15 à 20	10	< 1	< 0.01
Concentration sérique (g/L)	8 à 18	3.5 à 4.5	1 à 2	0 à 0.4	0.020.5
t ½ vie	21	7	5	3	2

1.4.1. Dualité fonctionnelle

Les Ig sont des molécules bipolaires qui présentent 2 pôles fonctionnels ; régions variables sont le support de l'activité anticorps, une Ig monomère peut ainsi lier deux épitopes, et régions constantes (Fc), responsables des propriétés biologiques (KOLOPP *et al*, 2009).

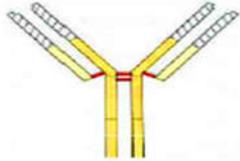
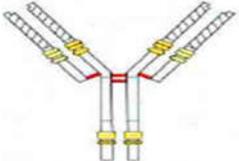
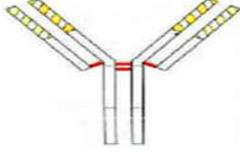
1.4.2. Dualité structurale

L'Ig présente une dualité structurale qui explique sa dualité fonctionnelle: elle possède deux extrémités variables identiques et propres à chaque Ig, et une portion constante définissant les cinq classes principales (BAKRI, 2012).

1.4.3. Variabilité des Immunoglobulines

Les immunoglobulines présentent trois niveaux de diversité illustrés dans le (Tableau II).

Tableau II : Hétérogénéité des immunoglobulines (variations antigéniques) (BAKRI, 2012)

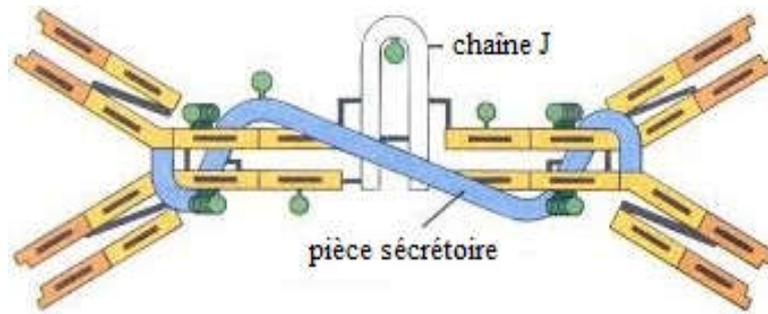
Variation isotypique	Variation allotypique	Variation idiotypique
		
Les isotypes correspondent aux déterminants antigéniques des Ig présents chez tous les individus d'une même espèce. Ils sont présents au niveau des parties constantes des chaînes lourdes et des chaînes légères. Ils permettent de définir les classes et sous classes d'Ig.	Les allotypes sont caractéristiques d'un groupe d'individus au sein d'une même espèce et sont transmis héréditairement. Ils correspondent à des déterminants antigéniques portés par les parties constantes des chaînes lourdes et légères.	Les idiotypes sont spécifiques d'un individu. Ils sont spécifiques à un anticorps donné dirigé contre un antigène donné. Les motifs idiotypiques se trouvent au niveau des régions variables. Soit au niveau du site anticorps soit à sa proximité.
Inter-intra-espèces	Intra-espèces	Intra-espèces

1.5. Physiologie de l'IgA humaine

L'IgA est caractérisée par l'hétérogénéité de ses formes moléculaires. Dans l'espèce humaine on distingue deux compartiments, distinctement cloisonnés, dans lesquels la répartition et la fonction des IgA sont différentes: le compartiment systémique ou sérique et le compartiment muqueux (ROITT *et al*, 1986).

1.5.1. L'IgA sérique.

Elle constitue la deuxième classe d'Ig sérique après les IgG, puisqu'elle représente environ 15 à 20 % du total des Ig avec un taux moyen de 2 à 3 g/L. Elle se présente principalement sous forme de monomères, avec un coefficient de sédimentation de 7 S et un poids moléculaire de 160 kD. En cas de MM à IgA on observe souvent des formes dimères, voir de degré de polymérisation supérieur. A l'extrémité carboxyterminale existe un



octodécapptide (18 acides aminés) supplémentaire. Une cystéine en avant-dernière position permet la liaison à une petite glycoprotéine de 15 kD et 137 acides aminés, appelée chaîne J (joining), dont l'unique fonction est d'assurer la polymérisation des IgA et IgM (Figure 2).

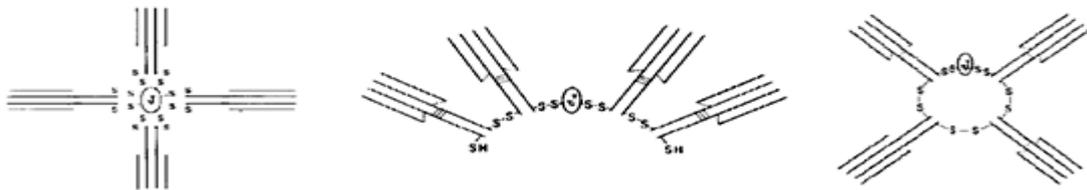


Figure 2 : Représentation de la polymérisation de l'IgA sérique (HAUPTMAN, *et al.*, 1975)

1.5.2. L'IgA sécrétoire (sIgA) ou exocrine

C'est l'Ig principale des sécrétions séro-muqueuses. Les muqueuses représentent 400 m² de contact avec l'extérieur et sont la principale porte d'entrée des microbes. C'est dire le rôle fondamental de l'IgA exocrine qui peut être comparée à une peinture immunologique de protection muqueuse, fonctionnant comme une première barrière de défense vis-à-vis des substances étrangères ingérées ou inhalées. Les principales sécrétions contenant des l'IgA sécrétoires sont les larmes, la salive, le liquide nasal, le liquide bronchique, la bile, le colostrum, le lait, les sécrétions intestinales et génitales. L' sIgA, qui peut appartenir à l'une ou l'autre sous classe, existe principalement sous la forme d'un dimère de 385 kDa (BAKRI, 2012).

Les sIgA sont formées de 2 unités IgA de base, d'une pièce sécrétoire de 70 kDa et d'une chaîne J de 15 kDa (Figure 3). Contrairement à la chaîne J, la pièce sécrétoire n'est pas synthétisée par les plasmocytes mais par des cellules épithéliales. L'IgA maintenue sous forme de dimère par la chaîne J est sécrétée par les plasmocytes sous-épithéliaux et se lie à la pièce sécrétoire en traversant la barrière épithéliale. La pièce sécrétoire facilite le transport de l'IgA dans les sécrétions et la protège contre la protéolyse (ROITT *et al.*, 1986).

Figure 3 : Schéma représentatif de la structure de l'IgA sécrétoire humaine (ROITT *et al*, 1986)

1.6. Immunoglobulines monoclonales

1.6.1. Définition

Les immunoglobulines monoclonales constituent une population homogène d'immunoglobulines identiques entre elles, synthétisées par un seul clone de plasmocytes malins, elle est constituée soit d'une seule classe de chaîne lourde et d'un seul type de chaîne légère, soit de chaînes légères isolées d'un seul type, soit beaucoup plus rarement de fragments de chaînes lourdes d'une seule classe (ROITT *et al*, 1986).

1.6.2. Caractéristiques des Ig monoclonales

1.6.2.1 L'identité structurale

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

1.6.2.2 L'identité immunologique

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

1.6.2.3 L'identité de la configuration des gènes

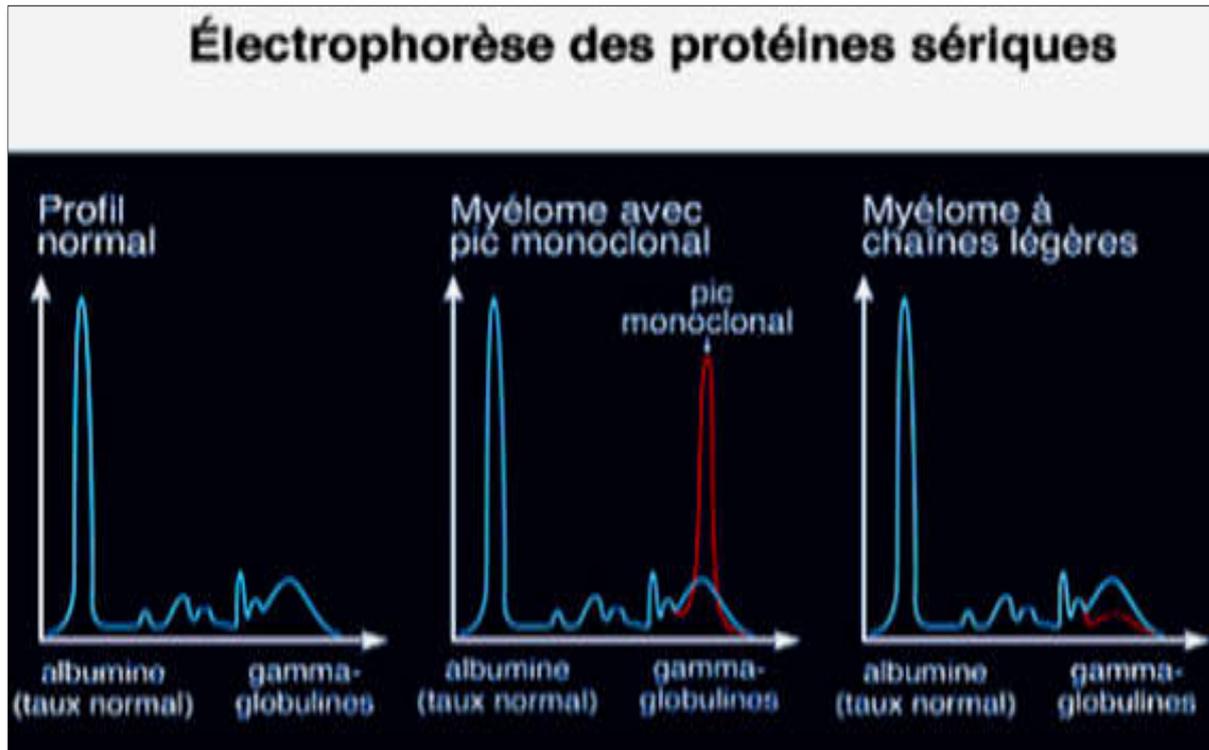
La biologie moléculaire indique que les gènes codant pour les Ig sont réarrangés de façon identique (BOULARAN, 2004).

1.6.2.4 L'identité de la mobilité électrophorétique

A l'électrophorèse, l'Ig monoclonale se manifeste par un pic étroit correspondant à une homogénéité de charge de l'immunoglobuline à la différence des Ig polyclonales donnant une large bande au niveau des gammaglobulines. Le pic peut être discret ou absent si l'Ig a

un PM suffisamment faible pour être éliminé par le rein (chaînes légères) (Figure 4) (BOULARAN, 2004).

Figure 4 : Electrophorèse des protéines sériques (COFAIS *et al*, 2015).



1.6.2.5 Leur localisation

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

CHAPITRE II
MYELOME MULTIPLE :
GENERALITE

2.1. Définition

Le myélome multiple (MM), également appelé maladie de Kahler, est une hémopathie maligne classée selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé ou WHO (World Health Organization) en 2001 parmi les tumeurs à cellules B matures sous la rubrique « *plasma cell neoplasms* » (SWERDLOW *et al*, 2008). Le MM est caractérisé par la prolifération d'un clone unique de plasmocytes tumoraux envahissant la moelle osseuse hématopoïétique. Le clone plasmocytaire produit une protéine (Ig) monoclonale (même chaîne lourde, même chaîne légère), complète ou non (MORLON, 2010), que l'on peut mettre en évidence dans le sérum et/ou dans l'urine (POTTIER, 2014).

2.2. Epidémiologie

Le myélome multiple (MM) est le second cancer hématologique le plus fréquent. Il représente environ 1% de tous les cancers. L'incidence annuelle moyenne du MM en Europe est de 6/100 000/an. L'âge moyen des patients au diagnostic se situe aux environs de 65 –70 ans. L'incidence du MM augmente en fonction de l'âge, elle atteint jusqu'à 46/100 000/an chez les patients ≥ 75 ans, et seuls 37% des patients ont moins de 65 ans au diagnostic. Ce cancer est plus fréquent chez l'homme que chez la femme (1,4:1) et touche aux Etats-Unis deux fois plus la population afro-américaine (CAIROLI *et al*, 2013).

En Algérie près de 2.000 Algériens souffrent de myélome multiple avec une incidence de 1,1 pour 100.000 habitants selon les résultats d'une enquête nationale exposée lors du 10eme congrès maghrébin d'hématologie, organisé à Oran en mai 2013, un taux qui reste inférieur au taux enregistré dans les pays occidentaux estimé entre 4 à 7 sur 100.000 habitants et légèrement supérieur à celui enregistré en Tunisie (0,7) et au Maroc (1) sur 100.000.

L'étude rétrospective, effectuée sur 6 ans (2006-2012), a relevé 1.938 patients atteints de myélome multiple contre 1.515 patients diagnostiqués lors de la première étude faite sur 12 ans (de 1994 à 2005). Environ 500 patients ont été diagnostiqués à l'est du pays, soit (26%), 1.054 (54,4%) dans la région centre et 388 patients à l'Ouest (MAHDIA, 2013).

2.3. Etiologie

En dehors d'une exposition à de fortes doses de radiations ionisantes, aucun facteur prédisposant n'a été clairement identifié. Il existe des cas familiaux mais ces derniers sont

exceptionnels. Cependant certaines professions qui comportent l'exposition aux contaminants tels que des herbicides, insecticides, métaux lourds, et poudres comme l'amiante semblent augmenter le risque pour le myélome multiple (MANDAL, 2014). Chose qu'a révélé une enquête nationale qui a rapportée que les travailleurs de la terre sont les plus touchés avec 13%, les maçons viennent en deuxième place avec près de 9%, alors que les médecins, les dentistes et les infirmiers sont touchés à moins de 1% (MAHDIA, 2013).

2.4. Oncogenèse

Il s'agit des phénomènes oncogéniques impliquant plusieurs gènes telles que le gène RAS, le gène Rb, le gène de la P53, les gènes MYC et BCL 2 dont la translocation, la mutation, la perte ou surexpression (des gènes) favorisent la dégénérescence des cellules normales et l'activation des cellules myélomateuses (EL MEZOUAR, 2010).

2.4.1. Les translocations

Les translocations chromosomiques impliquant le locus des IgH, localisé sur le chromosome 14 (14q32), sont fréquentes ($\approx 60\%$ des patients), avec pour conséquence la dérégulation de l'expression normale de gènes situés dans la région de cassure du chromosome partenaire (FACON *et al*, 2003).

Il existe une grande variabilité des chromosomes partenaires, ce qui témoigne en soi de l'hétérogénéité des MM. Cependant, deux translocations sont fréquemment rencontrées :

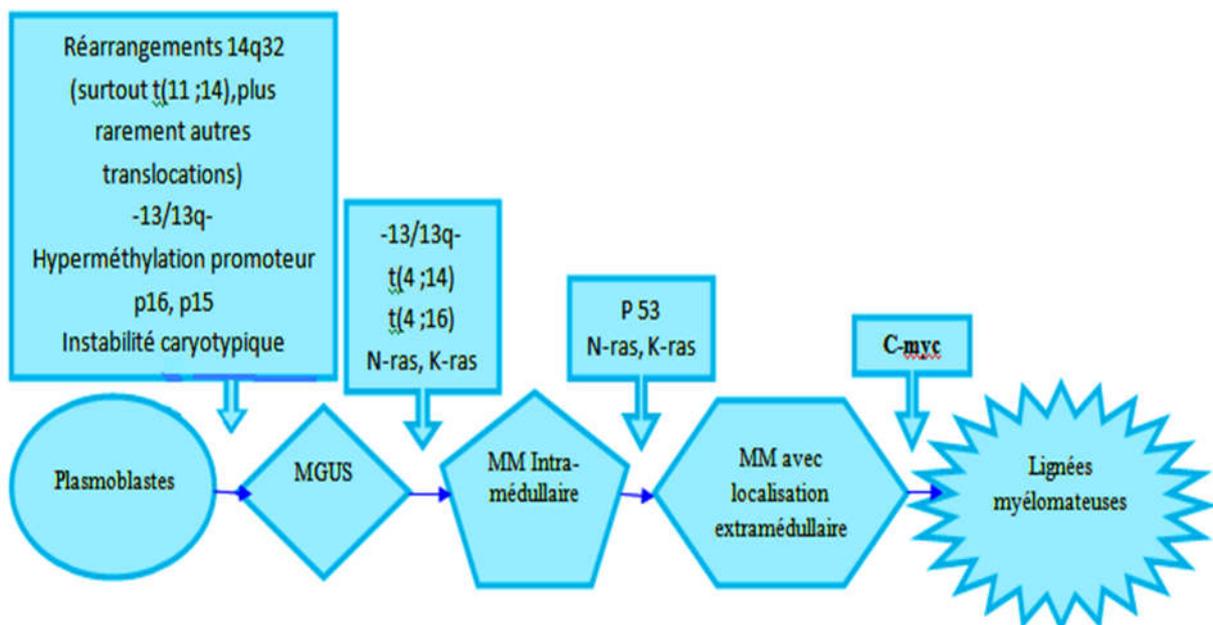
- La t (11;14) (q13;q32) : retrouvée chez 20% des patients avec une dérégulation de l'expression de la cycline D1 impliquée dans le contrôle du cycle cellulaire ;
- La t (4;14) (p16;q32) : retrouvée chez 15% des patients avec surexpression du récepteur tyrosine-kinase 3 pour le FGF; il s'agit d'un oncogène pouvant induire une transformation maligne des fibroblastes, permettant ainsi une survie et une croissance plasmocytaire maligne indépendante de l'IL-6 (TOUAOUSSA, 2015);

Plus rarement, la t (14;16) (q32;p23) : retrouvée chez environ 5% des patients, impliquant le locus c-maf et la t (6;14) (p21;q32) avec surexpression de la cycline D3 (Figure 5) (BOUAOUAD, 2011).

2.4.2. Les anomalies de nombre

Des anomalies de nombre peuvent occasionner la perte de gènes suppresseurs de tumeurs, comme c'est le cas dans une autre aberration chromosomique essentielle, la délétion totale ou partielle du chromosome 13. Certaines associations entre réarrangements 14q32 et anomalie de délétion du chromosome 13 sont notables. Ainsi, 85 % des patients avec une translocation t(4 ; 14) (p16 ; q32) présentent une délétion chromosomique et ces patients sont souvent d'isotype A, avec une b2-microglobuline (b2m) sérique élevée. À l'inverse, les patients sans réarrangement 14q32 sont majoritairement sans délétion chromosomique, et sont d'isotype G avec une b2m sérique basse. D'autres altérations moléculaires ont été rapportées, telles des mutations, des méthylations de promoteur de gènes suppresseurs de tumeur ou de phosphorylation des oncogènes (FACON *et al*, 2003).

Figure 5 : Modèle de progression des différentes hémopathies plasmocytaires,



(FACON *et al*, 2003).

2.5. Physiopathologie

La physiopathologie du myélome multiple est de mieux en mieux connue grâce à la meilleure connaissance des cytokines et de l'environnement médullaire dans la survie et la prolifération des cellules myélomateuses, ainsi que la compréhension des mécanismes de l'ostéopathie (MORLON, 2010).

2.5.1. Origine du clone plasmocytaire

Le précurseur du clone plasmocytaire est un lymphocyte B, ayant été activé dans les centres germinatifs ganglionnaires ou spléniques.

La cellule clonale initiale, pérимédullaire, circule dans le sang et va se loger dans la moelle osseuse. Ce recrutement dans la moelle osseuse est possible grâce à des interactions entre des antigènes membranaires plasmocytaires (en particulier VLA-4) et des molécules d'adhésion présentes sur les cellules du stroma médullaire et dans la matrice médullaire extracellulaire (la fibronectine) (CHAÏBI *et al*, 2000).

La croissance tumorale se fait surtout par accumulation cellulaire et repose sur l'inhibition de l'apoptose, et implique l'expression des protéines antiapoptotiques de la famille Bcl-2, en particulier Mcl-1, facteur de survie essentiel des cellules myélomateuse (FACON *et al*, 2003).

L'activation des cellules malignes est induite par des interactions entre certains de leurs récepteurs, en particulier le CD 40, et leurs ligands présents dans le stroma médullaire (CHAÏBI *et al*, 2000).

2.5.2. Le rôle des cytokines et du microenvironnement médullaire dans la survie et la prolifération des cellules myélomateuses

Les interactions entre stroma médullaire et plasmocytes mettent en jeu de nombreuses cytokines (Figure 6) dont les plus importantes sont :

L'IL-1 β sécrétée par les plasmocytes myélomateux. Les plasmocytes ne produisent jamais d'IL-1 β à l'état normal et exceptionnellement lors des GMSI. Elle est le principal facteur activant les ostéoclastes. Elle stimule la différenciation ostéoclastique et la production d'enzymes ostéolytiques par les ostéoclastes. Elle joue aussi un rôle essentiel dans l'expression des molécules d'adhésion par les plasmocytes. Enfin, l'IL-1 β stimule la sécrétion d'IL-6 par les cellules du stroma médullaire (Zandecki, 2006).

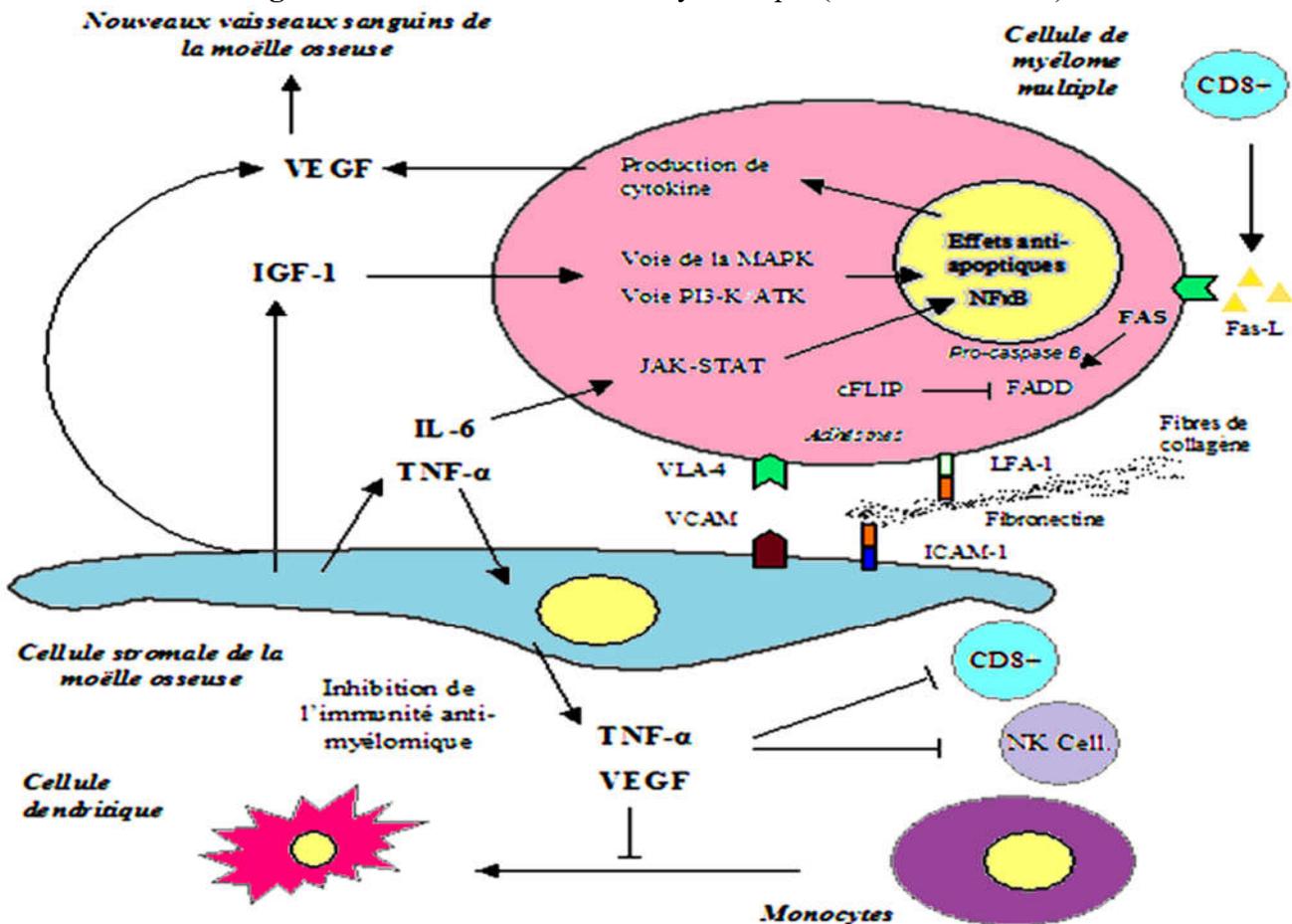
L'IL-6 est principalement sécrétée par les cellules du stroma médullaire. Sa sécrétion est activée par l'adhésion des plasmocytes à celles-ci. Elle joue le rôle d'un facteur de survie tumorale en inhibant l'apoptose des plasmocytes monoclonaux (CHAÏBI *et al*, 2000). Elle est

le facteur stimulant la croissance plasmocytaire mais également la croissance et le recrutement des ostéoclastes (Zandecki, 2006).

Le TGF- β 1 est synthétisé par les plasmocytes myélomateux. Il joue un rôle dans l'immunodéficience humorale et cellulaire des patients atteints de MM en inhibant les cellules immunitaires normales (lymphocytes B, T, NK et les macrophages). De plus, il stimule la production d'IL-6 par les cellules du stroma médullaire (CHAÏBI *et al*, 2000).

La survie et la prolifération des cellules malignes nécessitent également une vascularisation importante. Les cellules myélomateuses synthétisent du VEGF, facteur de croissance qui stimule l'angiogénèse locale et dont les récepteurs sont exprimés par les cellules stromales médullaires et les cellules myéloïdes et monocytaires. Les cellules stromales répondent au VEGF par une forte augmentation de la synthèse d'IL-6, et en retour l'IL-6 induit une augmentation de la synthèse du VEGF par les cellules myélomateuses (MORLON, 2010).

Figure 6: Microenvironnement myélomique (Bruno *et al*, 2005).



2.5.3. Les mécanismes de l'ostéopathie

Un élément crucial différenciant le myélome symptomatique du myélome asymptomatique est la survenue de lésions ostéolytiques, résultant d'un déséquilibre entre ostéoblastogenèse et ostéoclastogenèse (EMILE, 2015).

La découverte du système ostéoprotégérine (OPG)/RANK/RANKL est un progrès majeur dans la compréhension de l'ostéopathie du MM.

La molécule RANKL, exprimée par les cellules préostéoblastiques, se lie à son récepteur RANK présent sur les ostéoclastes (Figure 7), et cette liaison augmente fortement l'activité ostéoclastique (FACON *et al*, 2003).

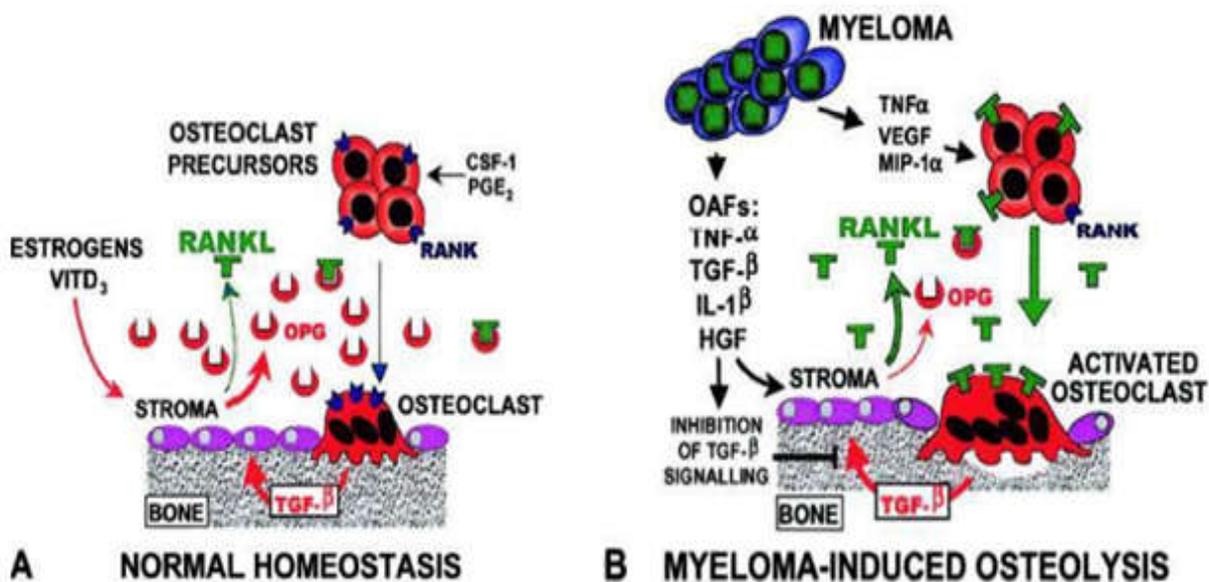


Figure 7: Balance OPG/RANK-L (ZARNITSKY, 2015)

Les plasmocytes anormaux se développant au détriment des autres cellules, ce qui est à l'origine de la suppression de l'hématopoïèse.

L'inhibition des précurseurs hématopoïétiques est probablement médiée par les cellules NK via certaines cytokines (NKCF). Une activité IFN-like produite par les cellules tumorales pourrait agir en synergie avec le NKCF. De plus, le contact direct entre érythroblastes immatures et plasmocytes malins par l'intermédiaire des molécules Fas-L et Trail entraîne une cytotoxicité sur ces précurseurs de la lignée rouge, une inhibition de leur maturation et une apoptose ; d'où une altération de l'érythropoïèse qui est à l'origine de l'apparition de l'anémie (EL MEZOUAR, 2010).

La présence de cellules myélomateuses dans la moelle osseuse entraîne l'inhibition des fonctions immunitaires normales, comme le blocage de la maturation des lymphocytes B (Pottier, 2014), la production anormale d'anticorps (reflétée par l'hypogammaglobulinémie), la coopération anormale entre lymphocytes T et B, ou l'activation aberrante de la fonction monocyte/macrophage. Certaines données suggèrent que les macrophages activés sécrèteraient un facteur capable d'activer les cellules myélomateuses, mais aussi d'inhiber la production d'immunoglobulines normales et les fonctions T normales. Dont la conséquence est l'augmentation du risque d'infections (EL MEZOUAR, 2010).

CHAPITRE III
DIAGNOSTIC
ET CARACTERISTIQUES
DU MYELOME
MULTIPLE

3.1. Diagnostic positif

Les critères diagnostiques du MM ont été actualisés en 2003 par l'IMWG (Tableau III) ce qui a permis une simplification et beaucoup plus de clarté dans ce domaine.

Pour poser le diagnostic de MM, il est nécessaire et suffisant d'objectiver une infiltration médullaire plasmocytaire monoclonale $\geq 10\%$ (CAIROLI, *et al.*, 2013), souvent dystrophique (ROUX, 2001) et/ou une paraprotéine sérique ≥ 30 g/l (CAIROLI *et al.*, 2013).

Par la suite, l'essentiel du diagnostic consiste à déterminer s'il s'agit d'un MM symptomatique ou asymptomatique.

Tableau III : Critères diagnostiques du myélome multiple selon IMWG (JANVIER, 2008)

Pathologie	Plasmocytose médullaire		Production monoclonale maximale (g/l)	Signes cliniques
MGUS	< 10%	Et	< 30	Absence
Myélome indolent	$\geq 10\%$	Et/ou	≥ 30	Absence
Myélome symptomatique	> 10%	Et/ou	> 30	présence d'au moins un des critères CRAB

Tableau IV : Les critères d'atteintes des systèmes CRAB (CAIROLI *et al.*, 2013)

Les critères CRAB	
C	Calcium: taux sérique > 115 mg/L
R	Insuffisance rénale: créatinine sérique >177 $\mu\text{mol/L}$ (>20g/L)
A	Anémie: hémoglobine <10 g/dL ou 2 g/dL en dessous de la limite inférieure de l'intervalle de référence
B	Bone lesions: lésions osseuses lytiques ou ostéoporose avec fractures et compression

D'autres atteintes «d'organe cible», plus rares, constituent également un critère diagnostique:

- des infections bactériennes récurrentes (>2 épisodes en 12 mois) ;
- un syndrome d'hyperviscosité, (CAIROLI *et al.*, 2013).

3.2. Signes cliniques

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 (POTTIER, 2014).

3.2.1. Altération de l'état général

Cliniquement, on note une altération de l'état général avec asthénie, amaigrissement et surtout fièvre tenace, parfois élevée et constituant le premier symptôme de la maladie, (BLACQUE-BELAIR, 1981).

3.2.2. Atteinte osseuse

3.2.2.1 Les douleurs osseuses

L'infiltration plasmocytaire s'accompagne d'une résorption ostéoclastique et d'une inhibition de la fonction reconstructrice osseuse des ostéoblastes. Les douleurs osseuses, d'horaire mixte, sont présentes chez 70 % des patients au diagnostic ou plus tard dans l'histoire de la maladie. Les douleurs sont d'abord vagues et erratiques, puis se précisant en certains sièges (rachis, sternum, ceinture pelvienne et scapulaire) (MANIER *et al*, 2011).

3.2.2.2. Les fractures pathologiques

Les fractures spontanées ou provoquées par un traumatisme minime sont notées chez un tiers de patients, et les tumeurs osseuses sont possibles (MANIER *et al*, 2011). Ces fractures surviennent souvent au niveau de la colonne vertébrale et moins fréquemment dans le bassin, les bras et les jambes (SHUSTIK, 2005).

3.2.3. Insuffisance rénale

L'IR est une complication évolutive majeure du MM, présente dans environ 20 % des cas au diagnostic et survenant chez 50 % des patients au cours de l'évolution. Dans plus de deux tiers des cas, elle est liée à la précipitation de cylindres myélomateux (MOUMAS *et al*, 2011). En effet, les plasmocytes tumoraux produisent une Ig monoclonale en grande quantité. Elle est soit complète, soit formée seulement d'une chaîne légère. Dans les deux cas, la quantité

de CLL est anormalement élevée chez les patients atteints de MM. Lorsque ces CLL en quantités excessives atteignent le rein et passent dans les glomérules, la capacité d'absorption des tubules proximaux est dépassée. Les CLL entrent alors dans les tubules distaux en association avec la protéine de Tamm-Horsfall et précipitent sous forme de cylindres hyalins, conduisant à une obstruction tubulaire (MORLON, 2010). (Figure 8)

Cette atteinte rénale peut également être déclenchée ou aggravée par une déshydratation, une infection, des traitements médicamenteux ou encore l'hypercalcémie (précipitation des sels de ca au niveau tubulaire) (POTTIER, 2014).

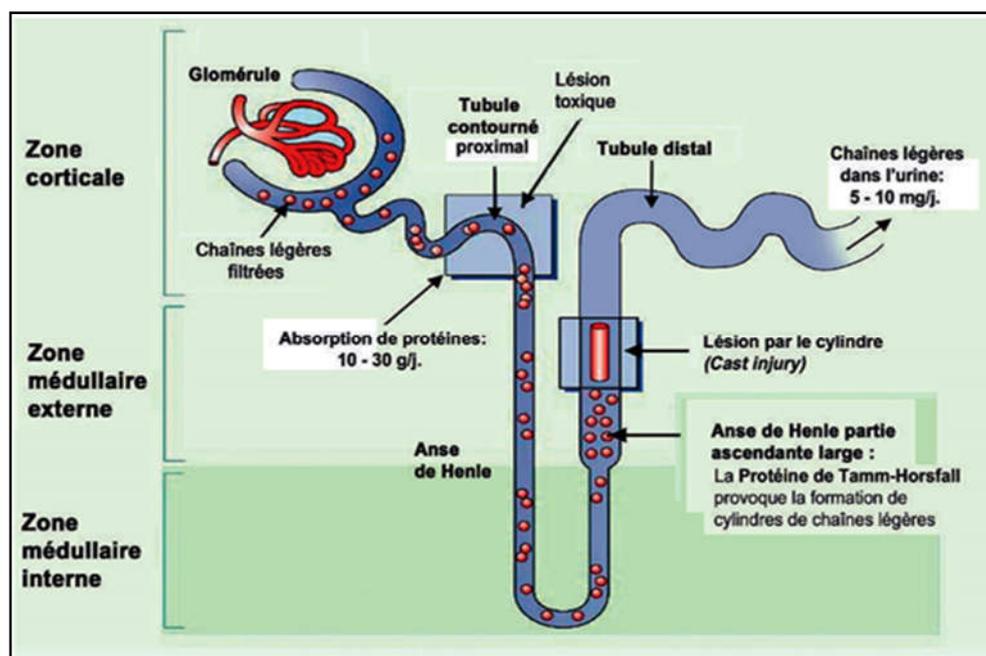


Figure 8 : Néphron montrant la filtration et l'excrétion des CLL (RIVIER, 2012).

3.2.4. Anémie

L'anémie est souvent présente dans le myélome multiple. Elle peut être causée par la maladie elle-même, qui diminue la production de globules rouges dans la moelle osseuse, ou par les médicaments utilisés pour détruire les cellules malignes (SHUSTIK, 2005).

Le taux d'hémoglobine se situe le plus souvent vers 10 g/dl. La fatigue est donc un symptôme classique du myélome multiple (POTTIER, 2014).

3.2.5. Syndrome infectieux

Il est présent au diagnostic chez environ 10 % des patients. Le MM n'est pas, en dehors de sa phase terminale, une maladie fébrile. Toute fièvre témoigne a priori d'un état

infectieux, dont le traitement est urgent. Le myélome induit un déficit de l'immunité humorale en lien avec une hypogammaglobulinémie, parfois profonde (< 3 g/L), dont la conséquence est l'augmentation du risque d'infections principalement à germes encapsulés, tels que *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* (MANIER *et al*, 2011).

3.2.6. Signes d'hypercalcémie

L'hypercalcémie est une circonstance de diagnostic de MM dans près de 20 % des cas (MANIER *et al*, 2011). Les symptômes d'hypercalcémie comprennent constipation, augmentation de la fréquence urinaire, faiblesse et modifications de l'état mental incluant un état de somnolence ou de confusion.

Plusieurs mécanismes en expliquent la survenue. Le principal est l'hyperostéoclastose induite localement par les cellules myélomateuses, via une production cytokinique telle que RANKL, TNF, MIP-1. À moindre mesure, la baisse du débit de filtration glomérulaire et l'augmentation de la résorption tubulaire du calcium ainsi que la diminution de l'activité ostéoblastique participent aussi à la survenue d'une hypercalcémie (SHUSTIK, 2005).

3.2.7. Atteinte neurologique

L'atteinte neurologique majeure dans le myélome reste l'atteinte médullaire centrale, le plus souvent par compression liée à une fracture vertébrale mais aussi à une épидурite tumorale ou un plasmocytome (MANIER *et al*, 2011).

La compression médullaire se traduit cliniquement par des signes radiculaires puis une paraplégie nécessitant, après IRM, un traitement chirurgical d'urgence (MORLON, 2010).

3.2.8. Syndrome d'hyperviscosité

Un taux élevé de paraprotéine peut entraîner un état d'hyperviscosité. Cette hyperviscosité est liée à la grande taille de la molécule d'Ig, à sa polymérisation et à sa conformation anormale. Le syndrome clinique d'hyperviscosité survient avec une prévalence de 2 à 6 % au cours du myélome. Lorsque les taux d'immunoglobulines sont supérieurs à 30 g/L d'IgM, 40 g/L d'IgG ou 60 g/L d'IgA, la viscosité du sérum peut atteindre 5 centipoises (cp), pour une normale comprise entre de 1,4 et 1,8 cp (MOREUILA *et al*, 2016)

Ses signes cliniques sont neurosensorielles (troubles visuels ou auditifs), neuropsychiques (céphalées, vertiges, convulsions, coma) et hémorragiques (hémorragies au fond d'œil). En cas de suspicion clinique, le diagnostic est facilement confirmé par la réalisation

en urgence d'un fond d'œil, retrouvant des lésions telles que dilatations veineuses, hémorragie rétinienne, micro anévrysmes, exsudats et œdème papillaire (MANIER *et al*, 2011).

3.3. Signes radiologiques

3.3.1. Radiographie conventionnelle

Toute suspicion de MM doit conduire à la réalisation systématique de radiographies standards du squelette (TRICART, 2010).

La radio du squelette permet de révéler une décalcification osseuse importante, des tassements vertébraux et des fractures (AMELLAL *et al*, 2014). On recherche la lésion lytique de type géode à l'emporte-pièce (Figure 9) (TRICART, 2010).

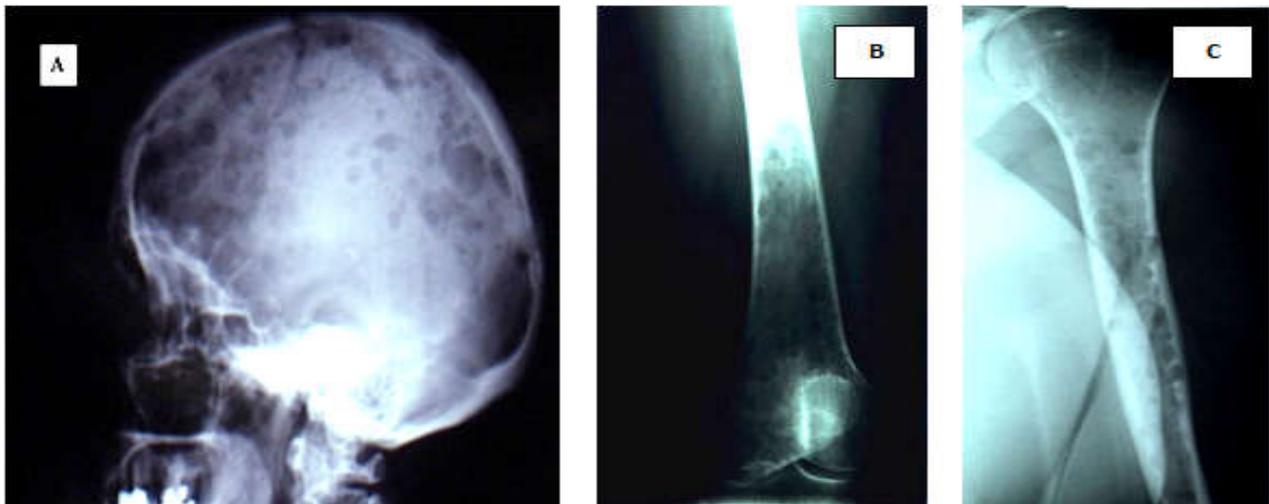


Figure 9 : Radiographies standard mettant en évidence des lésions ostéolytiques crâniennes (A), des os longs (B : Humérus ; C : Fémur) (EL MEZOUAR, 2010).

3.3.2. L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

L'Imagerie par Résonance Magnétique ne doit pas être systématique (TRICART, 2010). La plupart des équipes la réservent à deux situations : l'expertise des MM à faible masse tumorale où il n'existe pas de lésions osseuses en radiologie conventionnelle, et le diagnostic des complications ostéoneurologiques, compressions médullaires ou radiculaires. L'IRM précise au mieux l'état du mur postérieur de la vertèbre, l'existence d'une épидурite et l'état du cordon médullaire (Figure 10). En général, elle est réalisée au niveau du rachis dorsolombaire et du bassin (FACON *et al*, 2003).



Figure 10 : Aspect en IRM d'une compression médullaire (BOUAOUAD, 2011).

3.3.3. SCANNER OU TOMODENSITOMETRIE

Le scanner est indiqué en cas de suspicion de compression médullaire si l'IRM est contre-indiquée ; ou en cas d'extension aux parties molles avec nécessité de biopsie guidée. Il peut être utilisé pour préciser des lésions radiologiques discutables (TRICART, 2010).



Figure 11 : Scanner du rachis lombaire, lacune de TH12 (POTTIER, 2014)

3.4. Signes biologiques

Outre un bilan radiologique et en dehors des circonstances cliniques évocatrices (altération de l'état général, douleurs osseuses, compression médullaire lente,...), la prise en charge du MM comprend diverses analyses biologiques, indispensables au diagnostic, à l'évaluation du pronostic et à la décision thérapeutique (recherche des facteurs de gravité et de comorbidités associées), et au suivi de la pathologie, notamment l'évaluation de la réponse au traitement (MORLON, 2010).

3.4.1. Signes biochimiques

3.4.1.1. Dosage des protéines sériques totales

Cet examen de base, non spécifique, permet d'évoquer l'existence d'une GM en mettant en évidence une hyperprotidémie importante, souvent supérieure à 80 g/L, atteignant parfois 120 à 130 g/L. L'hyperprotidémie reflète l'augmentation d'une Ig monoclonale circulante dans le cas d'un MM (POTTIER, Étude du myélome multiple au travers de l'imagerie médicale, 2014).

3.4.1.2. Albuminémie

On constate chez 40 % des patients un taux d'albumine sérique abaissé lors du diagnostic (< 30 g/L) (POTTIER, 2014).

3.4.1.3. Hémogramme : Formule numéraire sanguine (NFS) et frottis sanguin

L'hémogramme met en évidence une anémie normochrome, normocytaire (POTTIER, 2014), parfois macrocytaire, arégénérative (MORLON, 2010), et plus rarement une leucopénie et/ou une thrombopénie (BERTHOU, 2006).

Le passage de cellules myélomateuses dans la circulation sanguine est rare. Quelques plasmocytes (1 à 3%) sont trouvés sur le frottis sanguin chez 15% des patients (SAN MIGUEL *et al*, 2006).

Enfin, notons que l'observation du frottis sanguin montre une rouleau-formation des hématies, qui s'empilent comme des assiettes (Figure 12). Ce phénomène est dû à l'hypergammaglobulinémie et est lié à l'accélération de la VS. Il est observé chez plus de 60% des patients atteints de MM (MORLON, 2010).

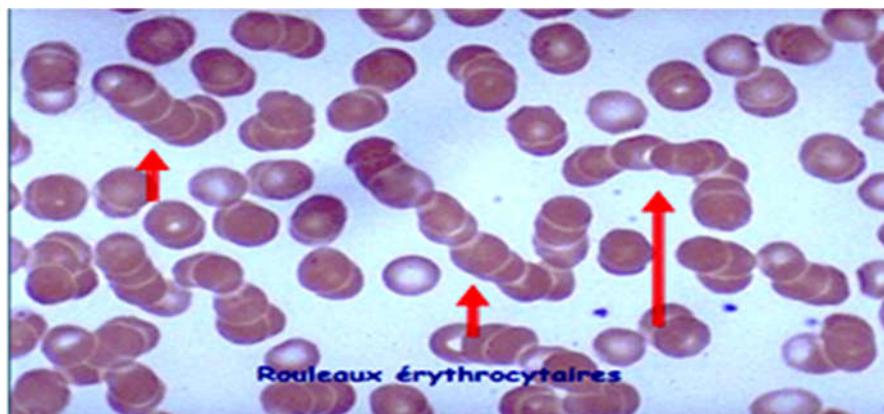


Figure 12 : Frottis sanguins colorés au MGG, rouleau-formation des hématies (rouleaux érythrocytaire) (BERTHOU, 2006).

3.4.1.4. Vitesse de sédimentation globulaire (VS)

La VS est accélérée dans la majorité des cas de MM, supérieure à 20 mm à la première heure et souvent supérieure à 100 mm (POTTIER, 2014), ce phénomène étant directement lié à la présence de la protéine monoclonale sérique (FACON, *et al.*, 2003). Notons que si ce paramètre est normal dans un contexte de MM (10% des cas), il faut penser à un MM à chaînes légères ou à un MM non sécrétant (POTTIER, 2014), ou lorsque la protéine monoclonale précipite à basse température (cryoglobuline) (FACON *et al.*, 2003).

En effet, l'accélération de la VS reflète un déséquilibre protidique (hyperprotidémie). Il s'agit d'un examen non spécifique, modifié en présence d'un syndrome inflammatoire ou d'une hypergammaglobulinémie polyclonale importante, et influencé par l'anémie (POTTIER, 2014).

3.4.1.5. La β 2 – microglobuline (β 2m)

La β 2m sérique est, un paramètre biologique capital dans le MM. C'est un marqueur de la prolifération lymphoplasmocytaire (MORLON, 2010). Ce dosage reflète en grande partie la masse tumorale. En effet la β 2m est surexprimée à la surface des plasmocytes malins et relarguée dans le sérum par clivage protéolytique. Ainsi plus la masse tumorale est importante plus le taux de β 2m est élevé. Cependant l'augmentation de ce paramètre biologique peut aussi être due à une insuffisance rénale (POTTIER, 2014).

3.4.1.6. La Lactate déshydrogénase (LDH)

L'augmentation du taux de LDH signe du caractère prolifératif de la pathologie tumorale. Les LDH sont augmentées chez 15% à 20% des patients atteints de MM (MORLON, 2010).

3.4.1.7. La Protéine C réactive (CRP)

La CRP est un marqueur de l'activité du MM. En effet, au cours de cette hémopathie, l'IL-6 est produite en grande quantité par le microenvironnement tumoral et par les plasmocytes eux-mêmes, constituant le facteur de croissance essentiel de la prolifération des cellules myélomateuses. Or, l'IL-6 stimule également la synthèse hépatique de la CRP.

La CRP est ainsi fréquemment augmentée dans le MM. Cependant, ce n'est pas un marqueur spécifique de l'activité de la maladie myélomateuse, car cette protéine de la phase aiguë de l'inflammation peut être augmentée par de nombreux autres facteurs (BOUAOUAD, 2011).

3.4.1.8. Créatinine

La créatinine est un déchet métabolique synthétisé au niveau du muscle à partir de la créatine phosphate. Elle est éliminée exclusivement par les reins et excrétée dans les urines.

La créatinine est un composé que l'on dose dans le sang, et parfois dans les urines, pour évaluer la fonction rénale.

L'atteinte de la fonction rénale dans le MM est évaluée par l'augmentation créatininémie. Celle-ci est supérieure à 175 $\mu\text{mol/L}$ (20 mg/L) dans au moins 20% des cas au diagnostic, et deux fois plus fréquemment dans les formes évoluées de la maladie (MORLON, 2010).

3.4.1.9. Calcémie

Le dosage de la calcémie fait partie des examens systématiques dans le bilan initial et dans la surveillance du MM. L'hypercalcémie représente une urgence médicale. Elle est considérée comme la cause essentielle de l'insuffisance rénale au cours du MM. Elle est le reflet de la résorption ostéoclastique (BOUAOUAD, 2011).

3.4.1.10. L'urée

L'urée est une molécule non toxique formée d'un atome de carbone et de deux groupements amines. La majorité de l'azote, excédentaire, est éliminé sous cette forme. Sa synthèse se déroule essentiellement au niveau hépatique et une faible partie est produite par les reins. L'augmentation du taux d'urée dans le sang (urée > 0.5 g/L) est généralement liée à une altération rénale. Le taux d'urée dépend donc de la fonction rénale, des apports alimentaires en protéines, de l'état d'hydratation.

3.4.2. Signes immunologiques

3.4.2.1. Exploration de l'Ig monoclonale

L'étude des protéines sériques fournit des informations non seulement sur le composant monoclonal mais aussi sur la production des Ig polyclonales physiologiques, fréquemment altérée dans le MM, ainsi que sur l'albuminémie, qui peut être diminuée (MORLON, 2010).

La détection d'une Ig monoclonale sérique et/ou urinaire signe la présence dans l'organisme d'un clone de lymphocytes B, sécrétant une immunoglobuline monoclonale.

La fréquence des immunoglobulines monoclonales augmente avec l'âge pour atteindre 5 % après 80 ans voire >10% si on fait des immunofixation (BERTHOU, 2006).

3.5. Anatomocytopathologie

3.5.1. Myélogramme

Le MM est une pathologie avant tout médullaire. Le myélogramme tient donc logiquement une place prépondérante dans l'exploration biologique de cette hémopathie.

L'échantillon de la moelle est prélevé par aspiration, généralement au niveau sternal ou iliaque, étalé sur lame, coloré au MGG et observé au microscope (HAMZA, *et al.*, 2012)

Le myélogramme permet de détecter une infiltration plasmocytaire quantitativement et/ou qualitativement anormale :

- **Quantitativement :**

Elle est significative quand la plasmocytose est supérieure à 30% des cellules nucléés médullaires (HAMZA, *et al.*, 2012). L'infiltration plasmocytaire médullaire dans le MM n'est pas forcément homogène. Les plasmocytes tumoraux s'agrègent pour former des colonies.

Le pourcentage de plasmocytes peut donc varier de façon significative selon le site d'aspiration, et parfois même la moelle paraît normale. Il peut alors être nécessaire de refaire la ponction de moelle dans un autre territoire, ou de réaliser une biopsie ostéo-médullaire (BOM). Malgré cela, le myélogramme reste la méthode de référence pour la quantification de l'infiltrat plasmocytaire médullaire. Les autres lignées cellulaires peuvent être diminuées en fonction de l'importance de l'envahissement plasmocytaire (MORLON, 2010).

- **Qualitativement :**

Le plasmocyte tumoral (figure 13) est la cellule caractéristique du MM. Il s'agit avant tout d'une cellule médullaire. Par rapport au plasmocyte normal, la cellule plasmocytaire myélomateuse est souvent dysmorphique. Elle est relativement volumineuse (15-20 μm) ronde ou ovale et contient un noyau d'environ 5 à 7 μm de diamètre. Parfois, le plasmocyte myélomateux est très volumineux et contient 2 ou 3 noyaux. Le noyau est rond excentré et contient 1 ou parfois 2 nucléoles. La chromatine n'est pas aussi condensée que dans le plasmocyte normal et n'a pas la configuration en rayon de roue du plasmocyte. Le cytoplasme est basophile et bleu vif ou plus clair (BERTHOU, 2006).

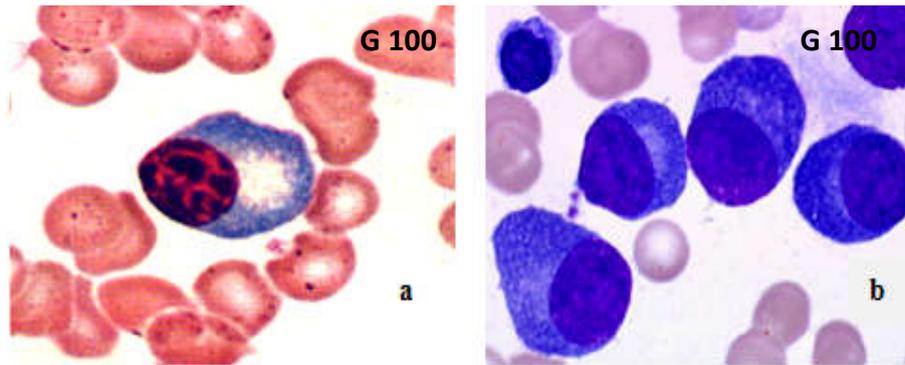


Figure 13 : Aspect morphologique des plasmocytes (a : normale ; b : tumorale) (BERTHOU, 2006).

La quantification de la prolifération plasmocytaire est déterminée par les techniques d'immunophénotypage et l'étude cytogénétique.

3.5.2. L'immunophénotypage

Cette technique met en évidence des récepteurs présent soit au niveau membranaire, soit en intracytoplasmique soit parfois même en intranucléaire. Ces récepteurs sont classés selon une nomenclature internationale en cluster de différenciation (CD). Ces CD sont non seulement spécifiques d'une ou plusieurs lignées mais ils peuvent aussi être associés à un stade de différenciation cellulaire (CHAVANCE, 2013).

Les récepteurs associés à la différenciation plasmocytaire comme le CD138 sont exprimés par la majorité des cellules myélomateuses (Figure 14). Les plasmocytes tumoraux peuvent être positifs pour d'autres marqueurs: CD79a, CD20 (rarement), CD45, CD56, CD10 et BCL-2 (EL MEZOUAR, 2010).

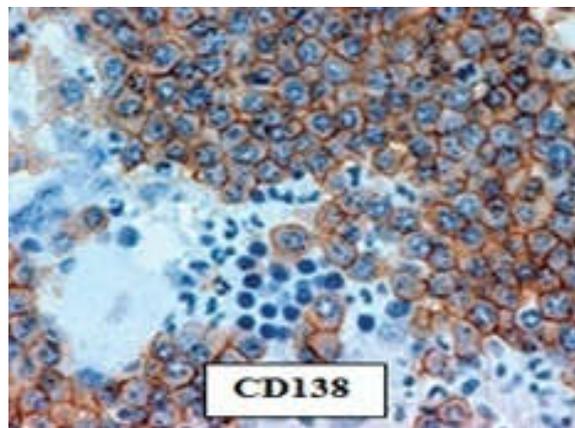


Figure 14 : Plasmocytes tumoraux d'un MM exprimant CD138 (EL MEZOUAR, 2010).

3.5.3. Cytogénétique

Il est fortement recommandé d'effectuer sur le prélèvement médullaire une analyse cytogénétique, par technique conventionnelle (caryotype) bien que le rendement dans le MM soit bas ($\leq 20\%$) et surtout par la technique FISH (Fluorescent in situ hybridization) avec les sondes qui s'applique aussi bien aux cellules en métaphase qu'en interphase (CAIROLI, *et al.*, 2013).

Finalement, la FISH est une technique sensible et spécifique qui permet l'identification des anomalies génétiques critiques du MM. La délétion du chromosome 13, et surtout t(4;14) et del17p sont ainsi recherchées par FISH au diagnostic chez les patients atteints de MM (MORLON, 2010).

3.6. Les différents types du MM

3.6.1. Formes immunochimique

3.6.1.1. Myélome non sécrétant

Chez certaines personnes atteintes d'un myélome multiple, les cellules myélomateuses ne libèrent pas suffisamment de protéines M ou de chaînes légères dans le sang ou l'urine pour être détectées par électrophorèse des protéines (TOUAOUSSA, 2015). Le myélome non sécrétant est le plus trompeur biologiquement (WEILL, 2013).

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

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

3.6.1.2. Myélome sécrétant

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

3.6.1.3. Myélome à chaînes légères

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

3.6.1.4. Myélomes à isotype d'immunoglobuline rare

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

3.6.2. Formes cliniques

3.6.2.1. Myélome multiple indolent

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

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

3.6.2.2. Myélome multiple symptomatique

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

Les myélomes symptomatiques correspondent aux stades II et III de la classification de Durie & Salmon. Ils sont évolutifs et doivent être traités (BENSELAMA, 2010).

3.7. Diagnostic différentiel

3.7.1. Gammopathie monoclonale de signification indéterminée

Cette Gammopathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI) constitue un état pré-tumoral stable de durée variable qui peut se transformer en hémopathie maligne (environ 1% par an évoluent en MM) (MORLON, 2010) d'où l'importance d'un suivi justifiant des bilans approfondis lors d'apparition de symptômes ou d'augmentation du taux de l'Ig monoclonale avec fréquemment, en parallèle, une diminution des autres Ig. De telles situations impliquent un examen médullaire afin d'apprécier l'importance de la plasmocytose médullaire, ainsi qu'un bilan radiologique de squelette à la recherche de lésions lytiques (BAUR CHAUBERTA *et al*, 2005).

3.7.2. Macroglobulinémie de Waldenström

La présence d'une IgM monoclonale est évocatrice d'une macroglobulinémie de Waldenström. Cette affection se distingue du myélome multiple par une infiltration lymphoplasmocytaire localisée à la moelle osseuse $\geq 10\%$, aux ganglions lymphatiques et à la rate. Les lésions osseuses sont exceptionnelles (BAUR CHAUBERTA *et al*, 2005).

Il existe un syndrome tumoral périphérique ganglionnaire et fréquemment une splénomégalie (BROUSSOLLE, *et al.*, 2013). Des taux élevés de macroglobuline (IgM monoclonale) favorisent l'apparition d'un syndrome d'hyperviscosité (BAUR CHAUBERTA *et al*, 2005).

3.8. Pronostique

Le MM est globalement de pronostic péjoratif mais hétérogène, avec 10% des patients qui décèdent précocement et d'autres qui survivent plus de 10 ans (BOUAOUAD, 2011).

- Les sujets âgés ont un pronostic plus sévère en raison de la sensibilité aux infections et d'une moins bonne tolérance aux traitements. Par contre les sujets jeunes présentent souvent des formes plus agressives.
- Selon Durie et Salmon (1975) : Cette classification relie les principaux paramètres cliniques à la masse tumorale (Tableau V). Selon l'International Staging System (ISS) (2005) (Tableau VI).
- Le taux sérique d'IL 6 est corrélé à la prolifération tumorale avec une valeur pronostique seuil de l'ordre de 7 pg/ μ l.
- La production hépatique de CRP est contrôlée par l'IL-6 in vivo. Il existe une corrélation entre le taux de CRP et l'intensité de la prolifération tumorale. La valeur pronostique seuil de la CRP est 6 mg/l. Les patients qui ont une CRP supérieure à 6 mg/l ont une survie deux fois plus courte que ceux ayant une CRP normale (médianes de survie : 21 vs 48 mois) (CHAÏBI *et al*, 2000).
- Le taux sérique d'albumine est également corrélé à la survie, les taux bas étant associés à une survie plus courte. Néanmoins, l'impact pronostique n'est réellement apparent que chez les patients présentant un taux très abaissé, en pratique inférieur à 30 mg/L, (LAURENCE LODE, 2005).
- Les myélomes à IgA, IgD et à chaînes légères sont de plus mauvais pronostic que les myélomes à IgG (ROOS, *et al.*, 2005). Le myélome IgA est plus fréquemment associé à une maladie extra-osseuse (BRIAN *et al*, 2011).

Tableau V : Classification du myélome multiple selon Durie et Salmon (BRIAN *et al*, 2011)

	CRITERES
STADE I	<p>Myélome de faible masse tumorale Présence de tous les critères suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hémoglobine > 10 g/dl ; • Calcémie ≤ 3mmol/L ; • Os normal ou un seul plasmocytome osseux ; • Faible taux d'Igm : <ul style="list-style-type: none"> ○ IgG sérique < 50 g/L ; ○ IgA sérique < 30g/L. • PBJ < 4g/24h.
STADE II	<p>Myélome de masse tumorale intermédiaire Regroupe les MM ne répondant pas aux critères de stade I et du stade III.</p>
STADE III	<p>Myélome de forte masse tumorale Présence d'un ou de plusieurs des critères suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hémoglobine < 8.5 g/dl ; • Calcémie > 3 mmol/l ; • Atteinte ostéolytique multiple ; • Taux élevé d'Igm : <ul style="list-style-type: none"> ○ IgG sérique > 70 g/L ; ○ IgA sérique > 50g/L. • PBJ > 12g/24h
	<p>Sous classification selon la fonction rénale</p>
STADE A STADE B	<ul style="list-style-type: none"> • Créatinine < 20 mg/L ; • Créatinine ≥ 20 mg/L.

Tableau VI : Classification du myélome multiple selon l'ISS (LEULEU *et al*, 2006).

STADE	CRITERES	SURVIE MEDIANE (MOIS)
I	$\beta_2m < 3.5 \text{ mg/L}$ et albumine $\geq 35 \text{ g/L}$	62
II	$\beta_2m < 3.5 \text{ mg/L}$ et albumine $< 35 \text{ g/l}$ ou $\beta_2m \geq 3.5 \text{ mg/L}$ et $< 5.5 \text{ mg/l}$	44
III	$\beta_2m \geq 5.5 \text{ mg/L}$	29

CHAPITRE IV

Conduite immunologique pratique devant un MM

4.1. Conduite à tenir immunologique devant la suspicion d'un MM

Toute suspicion de MM impose une recherche et une identification de l'Ig monoclonale au niveau sérique ou urinaire. Deux étapes sont primordiales :

- Une étape de recherche du composant monoclonal ;
- Une étape d'identification du composant monoclonal.

4.1.1. Étape de recherche du composant monoclonal

Au moyen de :

4.1.1.1. L'électrophorèse des protéines sériques

La plupart des explorations sanguines d'immunochimie sont effectuées sur du sérum et le recueil de l'échantillon primaire est donc effectué sur un tube sec (CHEVAILLER *et al*, 2001).

La recherche d'une Ig monoclonale (de type IgG ou IgA) nécessite une analyse des protéines sériques par électrophorèse. Deux méthodes sont utilisées en routine à savoir :

- **L'électrophorèse en gel d'agarose**

Elle est plus sensible. Elle permet la migration et la séparation des protéines sériques en tampon alcalin (pH = 9,2) sur un gel d'agarose prêt à l'emploi. L'interprétation se fait visuellement sur plaque lumineuse à la lecture du gel d'agarose ou après intégration des bandes colorées à l'aide d'un densitomètre (JAHN *et al*, 2008).

- **L'électrophorèse capillaire**

L'électrophorèse capillaire plus simple d'utilisation, plus rapide et moins coûteuse, est cependant moins sensible que les techniques classiques. C'est une technique de migration en solution libre en capillaire de silice fondue, permettant la séparation de molécules chargées en fonction de :

- La différence de mobilité électrophorétique entre les analytes à séparer, ce qui se traduit par des vitesses de migration différentes dans un tampon alcalin (pH = 9,9) à l'intérieur du capillaire;
- Le courant d'électroosmose qui est plus important, il permet dans la même manipulation de séparer à la fois les anions et les cations (JAHN *et al*, 2008).

CHAPITRE IV Conduite immunologique pratique devant un MM

Dans ces conditions les protéines, chargées négativement, migrent de l'anode vers la cathode (SADOUKE, 2009).

La détection des protéines est directe sur le capillaire par mesure du spectre en UV à une absorption de 200 nm avec des temps d'analyse très courts (<10 min) (JAHN *et al*, 2008).

Différentes fractions protéiques sont identifiées selon leur vitesse de migration électrophorétique : albumine, puis α -1, α -2, β -1, β -2 et enfin γ -globulines. L'analyse est qualitative, par l'examen visuel des bandes, et quantitative, par intégration densitométrique. Ainsi, chaque fraction séparée est représentée par un pic dont la surface est proportionnelle à l'intensité de la « tache » observée. L'ensemble constitue le profil électrophorétique (MORLON, 2010) (Figure 15).

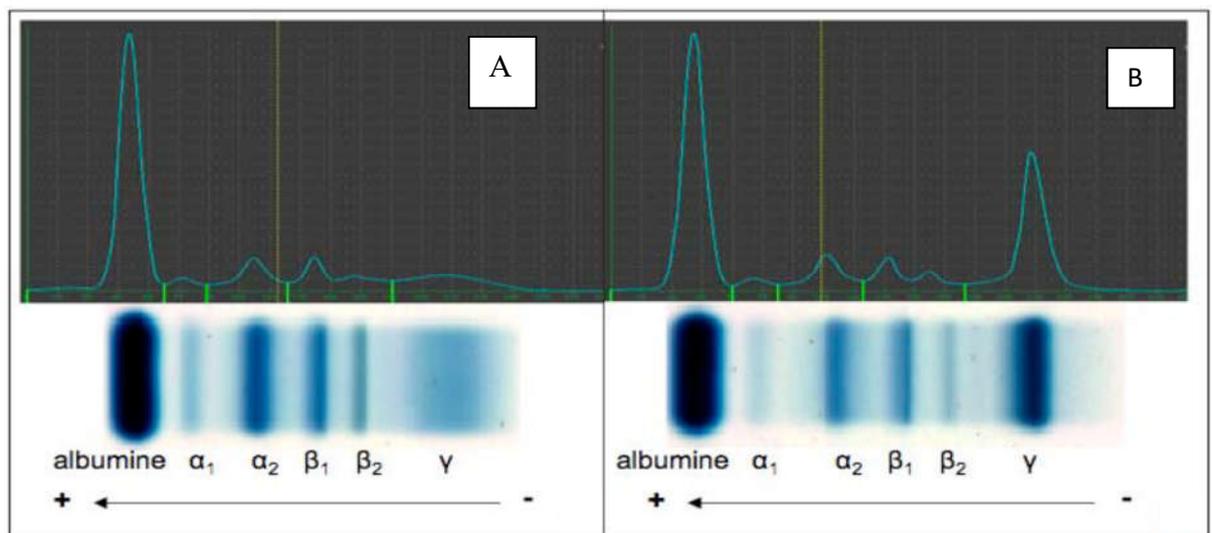


Figure 15: EPP sériques (A- Profil normal. B- Profil de MM) (MORLON, 2010).

La présence d'une GM est caractérisée par la présence d'une bande étroite et dense, soit un pic étroit sur le tracé électrophorétique, migrant le plus souvent dans la zone des γ -globulines, mais aussi parfois des β voire des α 2-globulines. Cependant, le pic monoclonal est parfois absent ou discret lorsque le composant a un poids moléculaire suffisamment faible pour franchir le filtre glomérulaire rénal. C'est le cas des MM qui ne sécrètent que des CLL (MORLON, 2010).

CHAPITRE IV Conduite immunologique pratique devant un MM

4.1.1.2. Electrophorèse des protéines urinaire

L'analyse des urines par électrophorèse est particulièrement importante dans le cadre du MM où elle complète de manière impérative l'analyse sérique, notamment lorsque celle-ci est peu ou non informative (myélome à chaînes légères, par exemple) (BRCION, 2002).

Un recueil des urines de 24 heures est nécessaire pour la détermination de la quantité totale de protéine excrétée par jour. Une protéinurie significative, souvent supérieure à 1 gramme par 24 heures, peut évoquer l'existence d'un passage de CLL monoclonales dans les urines que l'on nomme protéine de Bence Jones (PBJ). Cependant, elle doit être complétée par une analyse qualitative des protéines urinaires par EPP après concentration d'un échantillon des urines de 24 heures. Dans le diagnostic de MM à chaînes légères, la recherche de PBJ par électrophorèse est capitale, car le pic est souvent absent sur le tracé électrophorétique des protéines sériques (MORLON, 2010).

L'EPP sur gel d'agarose classique nécessite une concentration préalable des urines jusqu'à des valeurs de 20 g/L de protéines totales. Réalisée le plus souvent à l'aide de concentrateurs par dialyse, une concentration de l'ordre de 100 fois est usuelle, en particulier pour la mise en évidence des CLL. Il n'existe cependant pas de consensus sur le niveau de concentration à obtenir chez les sujets atteints de myélome. La séparation des protéines s'effectue en tampon alcalin ($\text{pH} > 9$) avec obtention des cinq fractions classiques. Après coloration par l'amidoschwartz, l'intégration se fait par densitométrie. Il est nécessaire de déposer en parallèle un échantillon d'un sérum normal, afin de bien positionner les curseurs d'intégration souvent difficiles à placer sur un électrophorégramme urinaire. Cette approche classique est bien adaptée à la mise en évidence et à la quantification de composants monoclonaux dans l'urine, du moins lorsque la concentration en protéines totales est supérieure à 500 mg/L.

Les bandes suspectes mises en évidence en gamma, beta ou alpha 2 doivent être impérativement confirmées par immunofixation si le patient n'est pas connu, (BRCION, 2002).

Les Principaux pièges de l'électrophorèse (ANNEXE 1)

4.1.2. Etape d'identification du composant monoclonal

4.1.2.1. Immunoélectrophorèse des protéines sériques et urinaires

Une immunoélectrophorèse (IEP) est réalisée devant toute anomalie de l'EPP (pic monoclonal, hypogammaglobulinémie) ou devant la présence de symptômes cliniques évocateurs (MORLON, 2010). Elle permet de confirmer le caractère monoclonal de l'Ig et de la typer (NGONE, 2001).

Il s'agit d'une réaction d'immunoprécipitation en milieu gélifiée basée sur la combinaison de deux méthodes effectuées en deux temps : l'électrophorèse de zone en agarose et l'immunodiffusion en gel. Le premier temps consiste en une migration électrophorétique, en tampon alcalin pH 8.2-8.6, de différentes fractions protéiques de la solution à analyser après son dépôt dans un puits creusé dans le gel. Le deuxième temps consiste à déposer un antisérum monospécifique ou polyspécifique dans une rigole parallèle à la direction de migration. Une double diffusion de l'antigène et de l'anticorps l'un vers l'autre se produit donnant ainsi aux zones d'équivalence respectives autant d'arc de précipitation (Figure 16) qu'il y a de systèmes antigène-anticorps (SADOUKE, 2009).

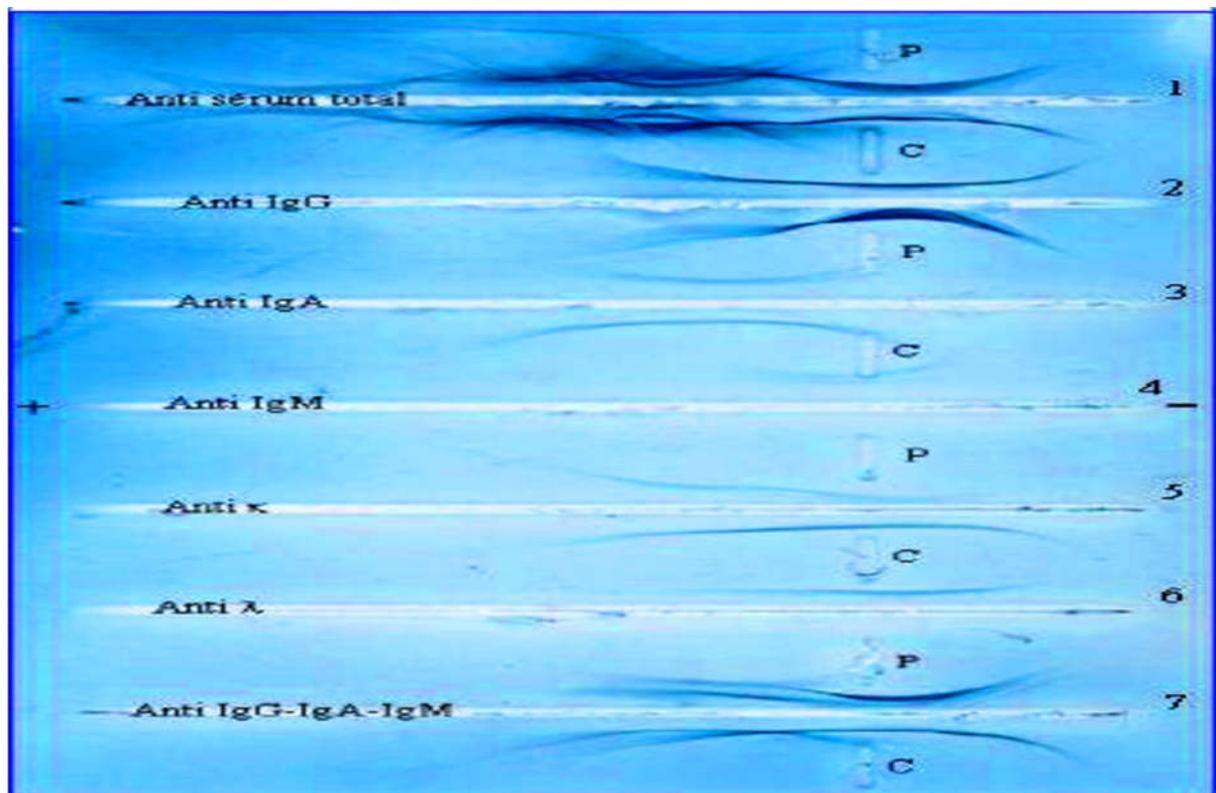


Figure 16 : Plaques d'IEP pour le typage des IgM (SADOUKE, 2009).

CHAPITRE IV Conduite immunologique pratique devant un MM

4.1.2.2. Immunofixation des protéines sériques et urinaires (IF)

En cas de pic monoclonal détecté à l'électrophorèse, une IF des protéines sériques est réalisée (Figure 17). Elle permet d'identifier la chaîne lourde et légère de la protéine monoclonale. Pour la chaîne lourde, il s'agit le plus souvent d'une chaîne γ ou d'une chaîne α (POTTIER, Étude du myélome multiple au travers de l'imagerie médicale, 2014). Concernant les chaînes légères, le type kappa est deux fois plus fréquent que le type lambda (BOUAOUAD, 2011).

La présence d'Ig monoclonale, se traduit par une bande étroite révélée par un antisérum anti chaîne lourde associée à une bande étroite révélée par un antisérum anti chaîne légère. Toutes deux sont précipitées au même niveau de migration que la bande étroite présente sur la piste témoin d'EPP.

Cette technique est également applicable pour la recherche et le typage d'une PBJ avec ou sans concentration préalable. Les antisérums utilisés sont alors : anti GAM, anti κ -totales, anti λ -totales, anti κ -free, anti λ -free (SADOUKE, 2009).

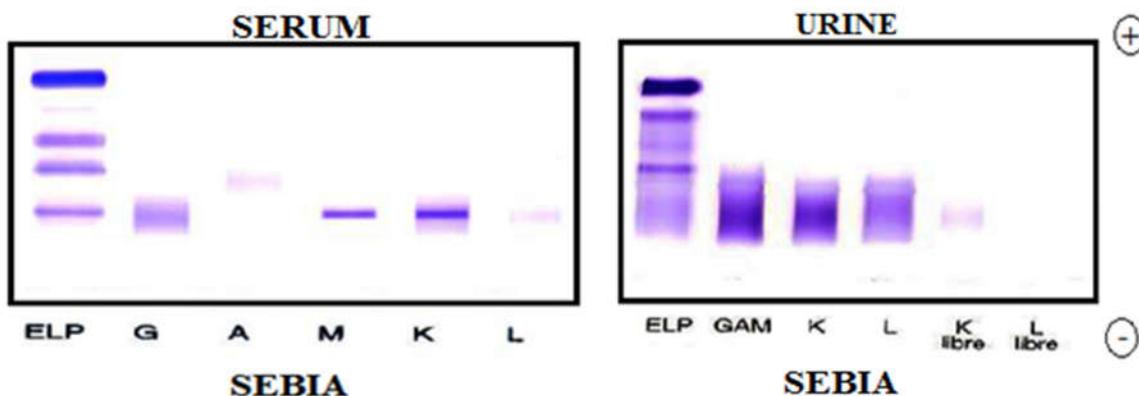


Figure 17 : Immunofixation des protéines sériques (MORLON, 2010).

4.1.2.3. Immunosoustraction

Technique analytique permettant le typage d'un pic monoclonal en électrophorèse capillaire.

On ajoute aux échantillons des anticorps fixés à des billes de sépharose (anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti- κ , anti- λ). Après agitation puis sédimentation des billes, le surnageant est ensuite prélevé et injecté dans les capillaires où a lieu l'étape classique de séparation électrophorétique.

CHAPITRE IV Conduite immunologique pratique devant un MM

On visualise alors une disparition de la fraction correspondant à l'anti-sérum utilisé, ce qui permet de localiser exactement l'immunoglobuline monoclonale sur le tracé capillaire (Figure 18), facilitant ainsi son estimation (SADOUKE, 2009).

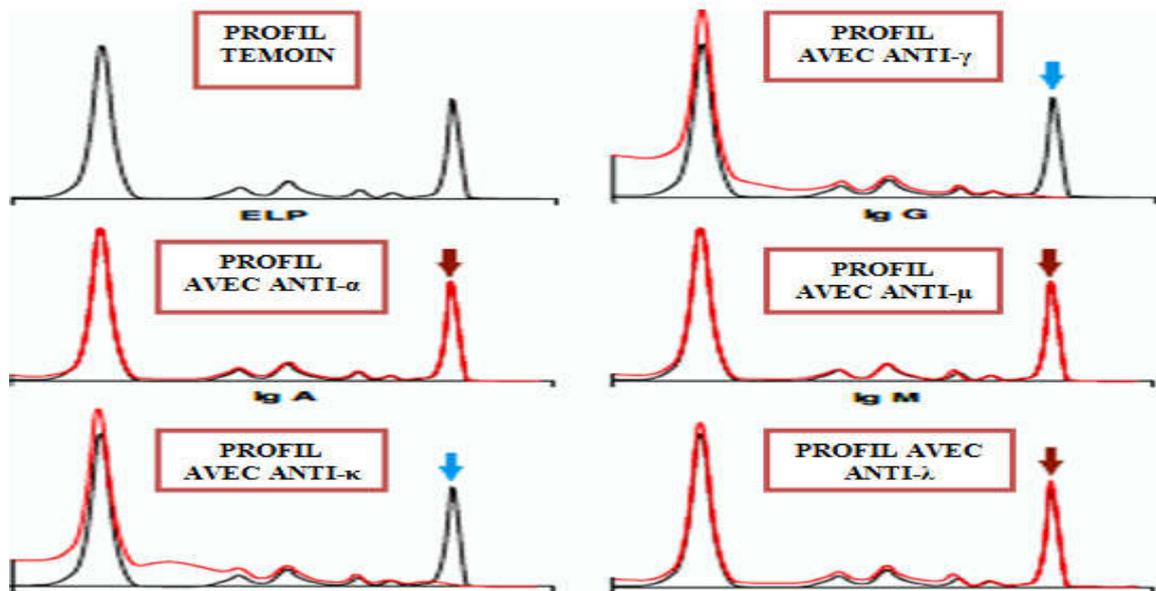


Figure 18 : Résultat de l'immunotypage par immunosoustraction sur le Capillarys révélant une Ig monoclonale IgG/K (SEBIA, 2014).

4.1.2.4. Immunodiffusion double (Ouchterlony)

C'est une technique d'immunoprécipitation qualitative qui consiste à déposer les protéines urinaires et les anticorps spécifiques dans des puits percés à distance les uns des autres dans un gel d'agarose vierge. Les molécules diffusent dans le gel en fonction de leur PM et forment des lignes de précipitation pour chaque système d'Ag et d'Ac. Chaque ligne de précipitation correspond à la zone d'équivalence respective, c'est-à-dire à la formation d'un réseau Ag-Ac.

Lorsque deux protéines diffusent dans un gel à la rencontre des Ac, on distingue des réactions d'identité, de non-identité ou d'identité partielle (BRICON, 2002).

4.1.2.5. Le dosage pondéral

Le dosage pondéral (quantitatif) des Ig par néphélométrie ou immunodiffusion radiale, (Pottier, 2014) sert essentiellement à apprécier la diminution des immunoglobulines normales polyclonales. Cette baisse polyclonale des autres classes d'Ig (observée dans 90% des cas)

CHAPITRE IV Conduite immunologique pratique devant un MM

reflète la sévérité de l'immunodépression. Cependant ce dosage est peu fiable car peut surestimer le taux d'immunoglobuline monoclonale.

Le dosage pondéral permet de retenir un profil très évocateur de MM à IgG ou à IgA, caractérisé par une augmentation respective du taux de l'Ig monoclonale en question. Il permet également de calculer le rapport K/λ , permettant ainsi de détecter la présence des CLL si ce rapport est perturbé et aide au typage de l'Ig monoclonale (BOUAOUAD, 2011).

4.1.2.6. Dosage sérique des CLL d'immunoglobulines

Ce test basé sur l'utilisation d'anticorps qui réagissent uniquement avec les épitopes masqués lorsque la CL est liée à la chaîne lourde, mais accessibles quand les CL sont libres. L'analyse consiste en deux mesures séparées: un dosage quantitatif des $CLL\kappa$ et $CLL\lambda$. Elle se fait à partir du sérum car, du fait de l'importante capacité du rein à cataboliser ces protéines, la mesure des CLL sériques est plus sensible que celle des CLL urinaires. La production anormale de CLL dans le MM est détectée par les modifications du rapport $CLL\kappa/CLL\lambda$. Des concentrations élevées des deux types de CLL avec un rapport κ/λ anormal laissent supposer une gammapathie monoclonale, associée ou non à une insuffisance rénale.

La sensibilité du test est annoncée à 2 mg/L, ce qui le rend plus sensible que l'immunofixation (50 à 300 mg/L) (MORLON, 2010).

CHAPITRE V

TRAITEMENT DU

MYELOME MULTIPLE

5.1. Traitement et perspectives

Bien que le MM reste, de nos jours, une maladie incurable, l'avènement, ces dix dernières années, de nouveaux agents thérapeutiques ont significativement amélioré le pronostic des patients (MANIER *et al*, 2011).

- **Myélome asymptomatique**

Aucun traitement n'est recommandé pour les myélomes asymptomatiques, seule une surveillance régulière clinique et biologique est préconisée. En cas de progression d'une anomalie, des radiographies du squelette à la recherche de lésions osseuses doivent être réalisées (MANIER *et al*, 2011).

- **Myélome symptomatique**

La stratégie thérapeutique de prise en charge du myélome multiple symptomatique est principalement liée à l'âge du patient et dans une moindre mesure à la présence de comorbidités (PEGORIER, 2014)

- Avant 65 ans, en l'absence de comorbidités notamment cardiaques, pulmonaires ou hépatiques et/ou d'une altération de l'état général avancée, le traitement initial consiste en une phase d'induction, suivie d'une phase de conditionnement, avant une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques, suivie d'une phase de maintenance ;
- Avant 65 ans, en présence de comorbidités notamment cardiaques, pulmonaires ou hépatiques et/ou d'une altération de l'état général avancée, le traitement initial consiste en une phase d'induction et une phase de conditionnement, d'intensité réduite, avant une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques, suivie d'une phase de maintenance
- Après 65 ans, le traitement initial consiste en une chimiothérapie conventionnelle, (PEGORIER, 2014).

5.1.1. Traitements spécifiques

5.1.1.1. Corticothérapie

Les stéroïdes synthétiques les plus fréquemment utilisés dans le traitement d'un myélome sont la prednisone et la dexaméthasone. Ils peuvent être administrés seuls ou en combinaison avec d'autres médicaments, comme les produits de chimiothérapie (REBAHI, 2009). Ils sont utilisés principalement pour leur effet anti-inflammatoire. A forte dose, ils diminuent la réponse immunitaire. Leur effet métabolique et de rétention sodée est moindre que celui de l'hydrocortisone.

5.1.1.2. Radiothérapie

Les indications de la radiothérapie sont Soit l'irradiation corporelle totale, dans le cadre d'un conditionnement de greffe ; ou palliative par irradiation d'un site hyperalgique, consolidation d'un foyer lytique menaçant, contrôle d'une compression médullaire (JEAN-NOEL, 1998).

5.1.1.3. Chimiothérapie conventionnelle

Le moyen le plus simple et efficace pour stopper la progression de la maladie dans 50% des cas est l'utilisation d'un alkylant tel le melphalan ou le cyclophosphamide, couplé ou non aux corticoïdes (BERTHOU C. , Myélome multiple 2006, 2006).

Le melphalan est un agent alkylant cytostatique bifonctionnel, le melphalan empêche la séparation et la réplication de l'ADN (acide désoxyribonucléique). Par ses deux groupements alkylés, il établit des liaisons covalentes stables avec les groupements nucléophiles des deux brins d'ADN, empêchant la réplication cellulaire.

L'association melphalan-prednisone (MP) permet d'obtenir en 6-9 mois une réponse objective chez 30-60% des malades et une médiane de survie de 36 mois.

5.1.1.4. Nouveautés thérapeutiques

5.1.1.4.1. La thalidomide

La thalidomide est un agent immunosuppresseur possédant des propriétés d'inhibition de l'angiogénèse (SAUTOIS, et al., 2000).

Elle inhibe les facteurs qui favorisent la croissance des vaisseaux sanguins (facteur de croissance endothélial vasculaire et facteur de croissance de base des fibroblastes) qui nourrissent les tumeurs, module le taux de certaines substances chimiques (les cytokines) que les cellules cancéreuses utilisent pour communiquer entre elles et orchestrer la croissance et la reproduction (par exemple : TNF- α , IL-6, IL-2, et IFN- γ) et influence la manifestation des substances chimiques impliquées dans le rejet sévère, comme la sécrétion de cytokines et la croissance cellulaire (REBAHI, 2009).

5.1.1.4.2. La lenalidomide et pomalidomide

Sont également des agents antiangiogénique. Ils agissent de façon complexe au niveau des interactions des cellules myélomateuses et du microenvironnement de la moelle osseuse (CAIROLI et al, 2013).

5.1.1.4.3. Inhibiteur du protéasome (Le Bortézomib)

L'inhibition pharmacologique du protéasome induit, *in vitro*, la mort des cellules tumorales, car le protéasome est nécessaire à la survie de toutes les cellules, y compris les cellules tumorales, qui sont encore plus sensibles que les cellules saines à son inhibition.

L'inhibition du protéasome par le bortézomib affecte les cellules cancéreuses de nombreuses façons, incluant l'altération des protéines régulatrices, qui contrôlent la progression du cycle cellulaire et l'activation du NFκB. Cette inhibition de l'activation du facteur de transcription NFκB est liée à l'inhibition de la phosphorylation de l'inhibiteur IκBα comme on l'observe dans les cellules myélomateuses.

L'inhibition de l'activité du protéasome aboutit aussi à une diminution de la dégradation des protéines régulatrices du cycle cellulaire : IκB, cycline E, p53 ou p27. Cela aboutit à la diminution de la multiplication cellulaire tumorale et à l'induction de l'apoptose.

Un autre effet important du bortézomib dans la mort cellulaire induite, et le blocage de la fonction du RE, ce qui induit l'accumulation de protéines malformées et ainsi l'apoptose des cellules par blocage de la réponse au stress réticulaire.

Parmi les mécanismes d'action montrés pour le bortézomib, on cite également l'effet inhibiteur des ostéoclastes et stimulateur des ostéoblastes (POULAIN *et al*, 2011).

5.1.2. Traitement intensif et greffes

5.1.2.1. La greffe autologue ou autogreffe

Le traitement initial chez la plupart des patients de moins de 65 ans. C'est une greffe de cellules souches sanguines appartenant au patient. Elles sont cultivées en dehors du corps et réinjectées par la suite. Quatre étapes sont nécessaires à cette technique :

- Le traitement d'induction : dont l'objectif est de réduire la masse tumorale et l'infiltration de la moelle osseuse par les cellules myélomateuses par chimiothérapie.
- Le recueil des cellules souches par cytophérèse. En cas d'insuffisance de cellules souches périphériques, on pratique un prélèvement au niveau de la moelle.
- L'intensification : chimiothérapie et radiothérapie intensive avant d'effectuer le prélèvement des cellules souches.
- Autogreffe : Les cellules souches réinjectées vont alors se loger dans la moelle osseuse et produire au bout de 10 à 20 jours les cellules du sang. Pendant cette période, le nombre de cellules du sang est très bas en raison de la chimiothérapie et ou de la radiothérapie à fortes doses.

5.1.2.2. La greffe de moelle osseuse allogénique ou allogreffe

Cette technique est peu utilisée dans le traitement des myélomes. Une allogreffe peut vous être proposée si vous avez moins de 50 ans à partir d'un donneur HLA identique (compatible). Elle peut être proposée en cas d'échec d'une autogreffe.

5.1.3. Traitements des symptômes et des complications

Il est essentiel et associera de façon variable le:

5.1.3.1. Traitement de l'anémie

Le traitement de l'anémie fait appel aux transfusions sanguines, mais aussi à l'érythropoïétine humaine recombinante (NGONE, 2001). L'anémie peut persister tout au long de l'évolution, sous une forme modérée qui ne justifie pas la transfusion, mais réduit cependant la qualité de vie des malades (FACON *et al*, 2003).

5.1.3.2. Traitement des infections

L'hypogammaglobulinémie est traitée par l'apport des immunoglobulines polyclonales, ce risque infectieux et l'hypogammaglobulinémie sont aggravés par les corticoïdes, traitement de première intention de la maladie (ROUX, 2001).

On dispose de trois types de parades théoriques : la vaccination, les immunoglobulines et l'antibiothérapie prophylactique (REBAHI, 2009).

5.1.3.3. Traitement de l'insuffisance rénale

Le traitement de l'insuffisance rénale est surtout préventif par le maintien d'une bonne hydratation permettant d'avoir une diurèse de 3 litres/j. La proscription de drogues néphrotoxiques, la correction des troubles métaboliques (hypercalcémie, hyperuricémie) et la prudence en cas d'utilisation des produits de contraste iodés. Cependant, en cas d'installation de l'IR le recours à l'épuration extra-rénale est indispensable (NGONE, 2001).

5.1.3.4. Traitement des lésions osseuses, compressions médullaires et hypercalcémies

La chimiothérapie est souvent le plus efficace des traitements antalgiques. L'existence de douleurs osseuses doit faire prescrire des antalgiques en quantité suffisante, débutant par le paracétamol mais en n'hésitant pas à utiliser les morphiniques.

La radiothérapie localisée (préventive) peut être indiquée sur un foyer tumoral particulièrement douloureux ou sur un site douloureux circonscrit, persistant malgré la

chimiothérapie ; Une lésion lytique à haut risque de fracture, sur un fémur ou un humérus, peut justifier une chirurgie orthopédique préventive, complétée par la radiothérapie (curative) localisée. Les épидurites et compressions médullaires sont des urgences. Il faudra faire la part, après IRM et un avis neurochirurgical, entre les patients chez qui une laminectomie décompressive est nécessaire (souvent suivie d'une radiothérapie), et ceux pour lesquels la chirurgie pourra être évitée grâce à la radiothérapie, volontiers associée à la dexaméthasone à forte posologie (ROUX, ACTUALITES DU MYELOME VIIIITH INTERNATIONAL MYELOMA WORKSHOP, 2001).

L'hypercalcémie est une urgence thérapeutique, dont le traitement repose sur l'hydratation, les bisphosphonates et la mise en route (ou la modification) de la chimiothérapie (FACON *et al*, 2003).

5.1.3.5. Effet anti-tumoral des bisphosphonates

In vitro, les bisphosphonates ont un effet anti-prolifératif et apoptotique sur les cellules myélomateuses. In vivo, les bisphosphonates inhibent l'ostéolyse, l'effet anti-tumoral observé dans certains modèles pourrait être lié aux modifications du microenvironnement avec une diminution de la libération de facteurs de croissance présents dans la matrice osseuse ou par un effet direct (ROUX, ACTUALITES DU MYELOME VIIIITH INTERNATIONAL MYELOMA WORKSHOP, 2001).

5.1.3.6. Traitement du syndrome d'hyperviscosité

Le traitement du syndrome d'hyperviscosité associe les échanges plasmatiques (plasmaphèreses) et la mise en route rapide de la chimiothérapie (FACON *et al*, 2003).

Le myélome multiple demeure aujourd'hui une affection redoutable et incurable. Cependant, une meilleure connaissance des mécanismes cellulaires et le développement de nouvelles thérapies ciblées devraient améliorer cette situation préoccupante dans un avenir que l'on souhaite proche (REBAHI, 2009).

PARTIE
EXPERIMENTALE

CHAPITRE VI
MATERIEL
ET METHODES

6.1. Type de l'étude

Etude descriptive et rétrospective, de l'épidémiologie et les résultats d'exploration immunologique, biochimique et hématologique d'un groupe de patients atteints de Myélome Multiple à IgA.

6.2. Objectifs de l'étude

L'objectif principal de notre étude est de définir un profil épidémiologique et biologique des patients atteints du MM à IgA explorés au niveau du laboratoire de Biochimie du CHU de Tizi Ouzou.

6.3. Matériel et Méthodes

6.3.1. Patients :

Notre étude a porté sur un groupe de 31 Patients atteint d'un myélome multiple a IgA; Tous répondent aux critères diagnostiques internationaux consensuels du MM (The IMWG, 2003), orientés au Service de Biochimie du CHU de Tizi-Ouzou pour exploration immunologique, Il s'agit d'une étude s'étalant sur une période de 21 mois a partir du mois d'octobre 2014 au mois de mai 2016, incluant l'étude prospective sur une cohorte de 10 patients étalée sur une période de 04 mois (Février 2016 à Mai 2016).

Les patients inclus, sont originaires pour la grande majorité d'entre eux de Tizi-Ouzou et environs. Certains sont pris en charge suite à l'apparition d'au moins d'un des critères « CRAB » évocateur d'un myélome multiple. Pour d'autres, la découverte de la maladie, était fortuite, à l'occasion d'un bilan de routine (NFS, VS, Calcémie, ...) ou d'un bilan d'extension d'une autre pathologie. Nous n'avons inclus dans l'étude que les patients dont un pic monoclonal est visible à l'EPP.

Les caractéristiques de 31 patients atteints d'un myélome multiple à IgG, ont été rapportées par une étude en parallèle. Tous répondent aux critères diagnostiques de l'IMWG.

Afin d'analyser les paramètres épidémiologiques, biochimiques, hématologiques et immunologiques entre deux groupes de MM à Ig G et MM à IgA, on a établi une liste de patients, pour lesquels on a procédé à une comparaison.

6.4. Méthodes

6.4.1. Démarche diagnostique au laboratoire de Biochimie du CHU de TO

Pour chaque patient on effectue :

- Une EPP sérique afin de chercher un éventuel composant monoclonal.
- Devant la présence d'un pic monoclonal à l'EPP, un immunotypage par immuno soustraction est réalisé.
- Un bilan biochimique : Dosage de l'urée sanguine, créatininémie et calcémie

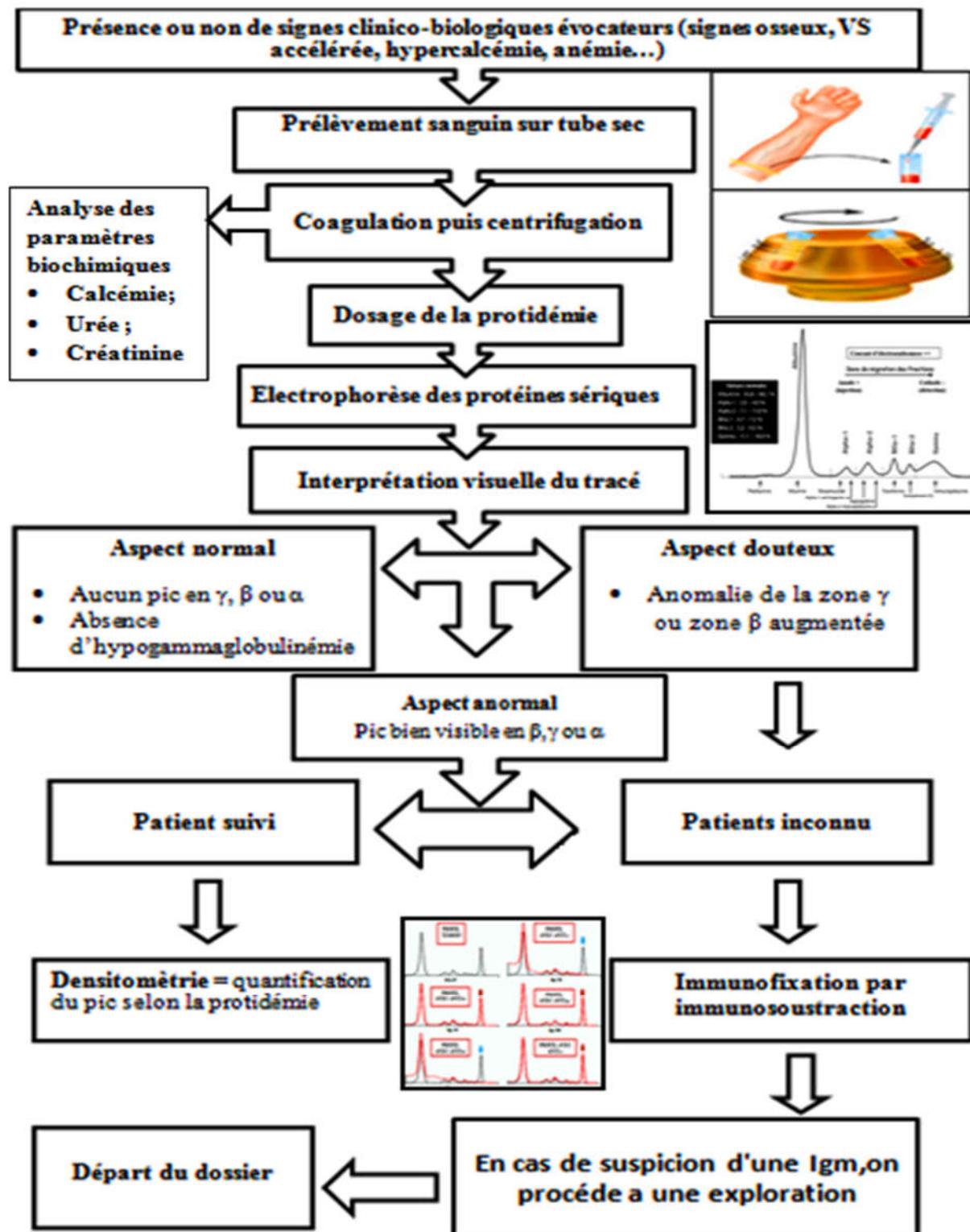


Figure 19: Schéma illustrant la démarche diagnostique pour la mise en évidence d'une Ig monoclonale dans le sérum au laboratoire de biochimie du CHU de Tizi Ouzou.

Les paramètres analysés lors de ce travail de recherche sont essentiellement :

- Le taux de protides ;
- Les résultats de l'EPP ;
- Les résultats de l'immunotypage ;
- Les paramètres biochimiques : Calcémie, Urée, Créatinine ;
- Les paramètres hématologiques : VS, Hb et plasmocytose médullaire ont été rapportés à partir des dossiers des patients ;

Nous avons établi une fiche d'exploitation sur laquelle on a rapporté les résultats des différents paramètres analysés des patients, (**Annexe 4**).

6.5. Les techniques analytiques :

6.5.1. Prélèvement et conservation des échantillons

Les prélèvements sanguins sont réalisés après 12 heures de jeûnes par ponction veineuse sur tube sec. La ponction veineuse permettant un prélèvement de sang est un acte quotidien indispensable pour rechercher une immunoglobuline monoclonale.

Une fois le prélèvement coagulé, acheminé vers le laboratoire de biochimie, nous avons cassé le caillot de fibrinogène à l'aide d'un agitateur avant de procéder à la centrifugation. Qui permet de recueillir les sérums (surnageants) de chaque prélèvement.

Les échantillons peuvent être conservés au maximum 10 jours au réfrigérateur (entre 2 et 8°C). Pour des conservations prolongées, congeler les échantillons rapidement (au maximum dans les 8 heures après le prélèvement). Les sérums congelés sont stables 1 mois.

6.5.2. Dosage de la protéinémie

Ce dosage a été effectué pour chaque échantillon sérique par la méthode de Biuret sur Automate architecte ci 4100 (Figure 20) et nous a servi à déterminer les pourcentages des cinq fractions électrophorétiques (Albumine, alpha1 globulines, alpha2 globulines, beta globulines et Gamma globulines).



Figure 20 : Automate ARCHITECT ci 4100 du Laboratoire de Biochimie du CHU de T-O.

6.5.2.1. Principe

Les liaisons peptidiques des protéines interagissent avec les ions cuivre pour former un complexe de couleur violette dont l'intensité est mesurée au point de virage de la réaction à 545 nm.

- **Equation de la réaction**



La méthode protéines totales II (TP) est basée sur la méthode de Weichselbaum qui utilise le réactif du Biuret (Sulfate de cuivre CuSO_4 en solution alcaline).

- **Valeurs de référence**

5.7- 8.2 g/dl (57-82 g/l).

6.5.3. Electrophorèse des protéines sérique

6.5.3.1. Principe

Le système CAPILLARYS (2 SEBIA) (Figure 21) utilise le principe de l'électrophorèse capillaire en solution libre, qui représente la forme la plus courante de l'électrophorèse capillaire (**Annexe 2**). Il permet la séparation de molécules chargées en fonction de leur mobilité électrophorétiques propre dans un tube de diamètre interne inférieur

à 100 μm rempli de tampon de pH donné, et, selon le pH de l'électrolyte, d'un flux électro-osmotique plus ou moins important. La séparation est ensuite réalisée en appliquant une différence de potentiel de plusieurs milliers de volts aux bornes du capillaire. La détection directe des protéines est effectuée à 200 nm côté cathode. Avec le tampon utilisé à pH basique (9,9), l'ordre de migration (de l'anode vers la cathode) des protéines sériques est le suivant : gamma globulines, bêta-2 globulines, bêta-1 globulines, alpha-2 globulines, alpha-1 globulines et albumine. Chaque fraction contient un ou plusieurs constituants (SADOUKE, 2009).

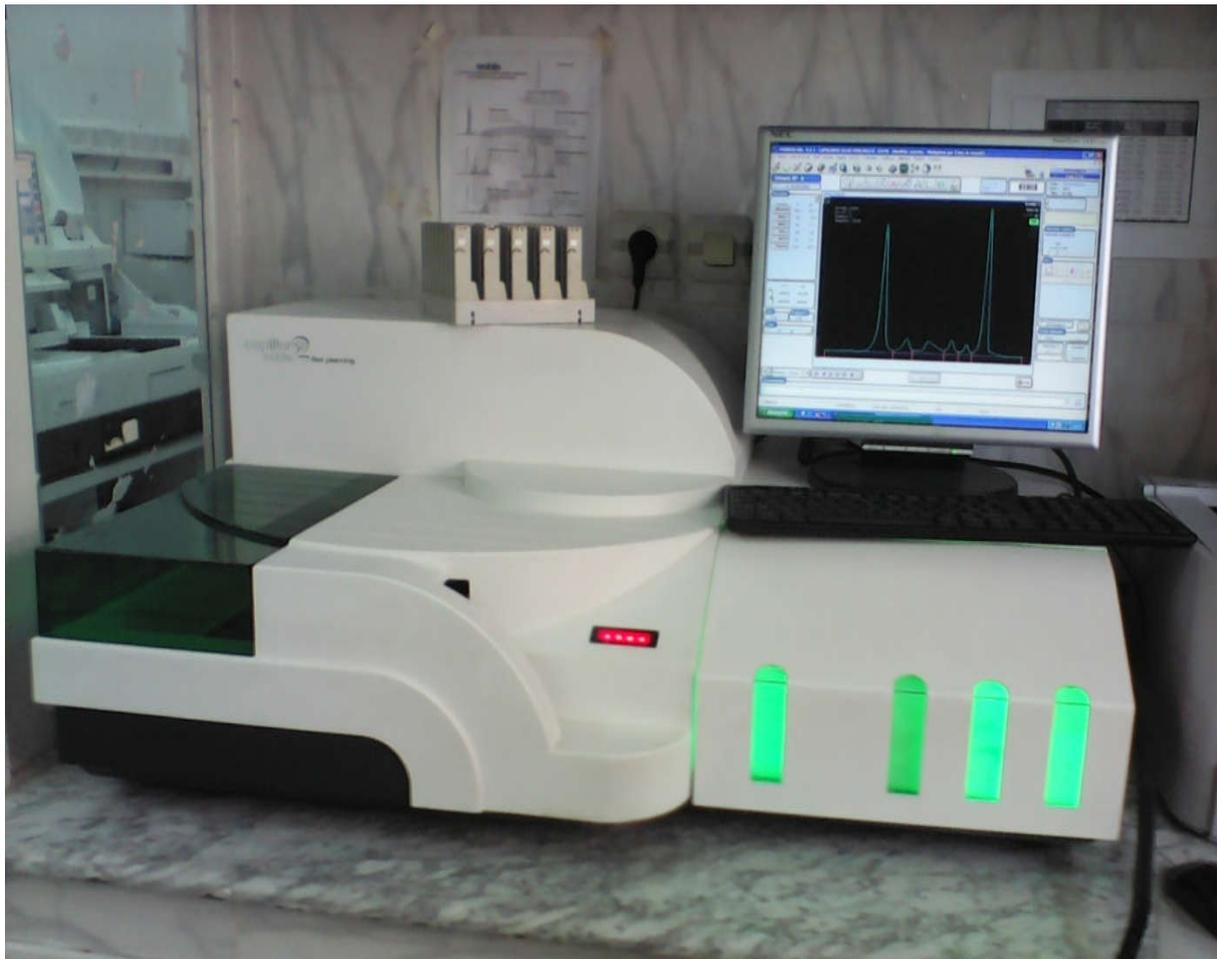


Figure 21 : Automate Capillaris SEBIA du Laboratoire de Biochimie du CHU de T-O.

La détection directe sur le capillaire à 200 nm permet de définir les concentrations relatives (pourcentages) de chaque fraction. La figure 22 représente un schéma illustrant ce principe :

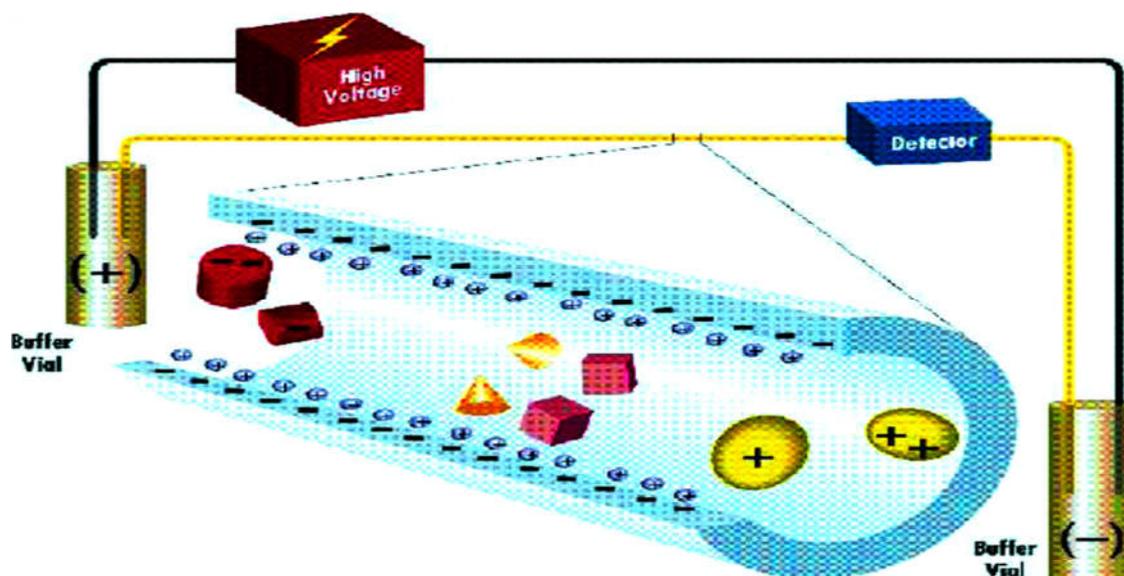


Figure 22 : Principe de l'électrophorèse capillaire (SADOUKE, 2009).

6.5.3.2. Réactifs

Tableau VII : réactifs fournis avec le système Capillarys 2

COMPOSANTS	REF.N° 2153
Tampon (prêt a l'emploi)	2 flacons de 700 mL
Solution de lavage (solution concentrée)	1 flacon de 75mL
Barrettes de dilution	1sachet de 90
Filtres	3filtres
BARRETTES ANTISÉRUMS (FOURNIS DANS LE KIT CAPILLARYS IMMUNOTYPING)	1boite de 60 barrettes

• Autres réactifs nécessaires

1. Eau distillée ou déminéralisée
2. Capiclean
3. Solution d'hypochlorite de sodium (pour le nettoyage de l'aiguille de prélèvement)

Les valeurs de référence du laboratoire pour chaque fraction sérique ont été établies (Tableau 8):

Tableau VIII : valeurs de référence du laboratoire pour chaque fraction sérique.

Fraction	Réf. g/l	Réf.%
Albumine	40,2-47,6	55.8-66.1 %
Alpha-1 globulines	2,1-3,5	2.9-4.9 %
Alpha-2 globulines	5,1-8,5	7.1-11.8 %
Beta-1 globulines	3,4-5,2	4.7-7.2%
Beta-2 globulines	2,3-4,7	3.2-6.5%
Gamma globulines	8-12	11.1-18.8%

Un exemple de tracé électrophorétique d'allure normale obtenu sur le Capillarys (EC) au laboratoire de Biochimie de CHU de TIZI-OUZOU est illustré par la figure suivante :

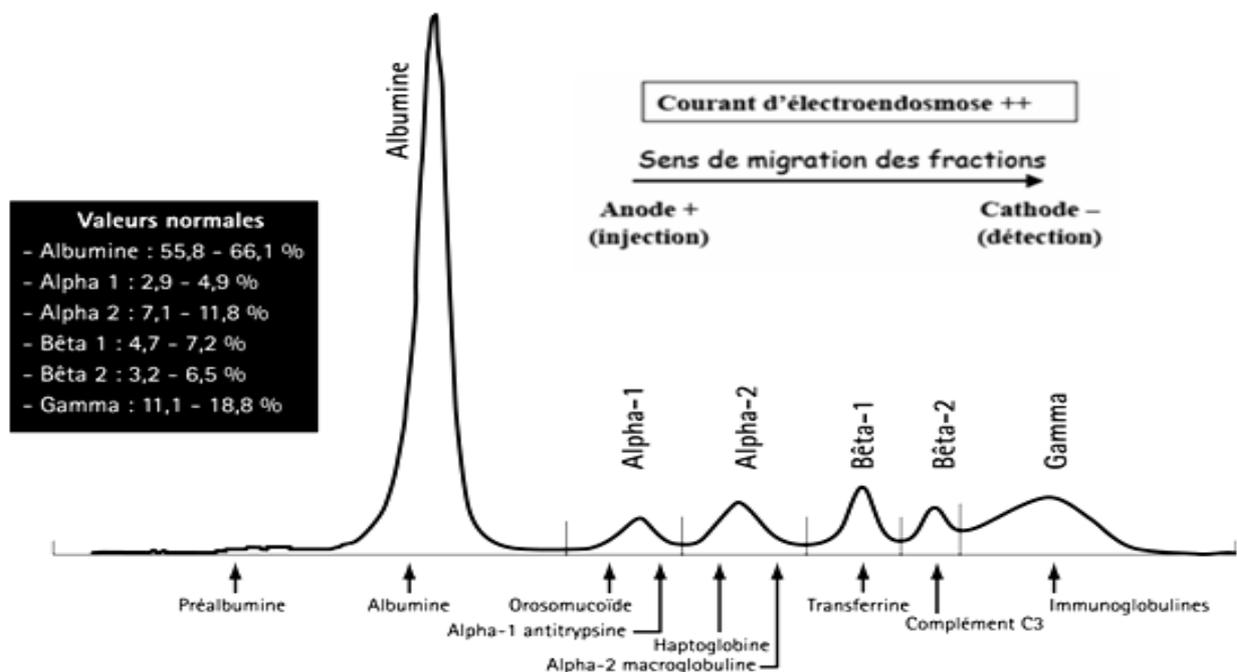


Figure 23 : Tracé électrophorétique illustrant les différentes fractions protéiques après intégration densitométrique.

Les Ig monoclonales, marqueurs des gammopathies, sont détectées lors de l'EPP. En électrophorèse capillaire, elles se présentent sous forme de pics anormaux situés essentiellement dans la zone des bêtas ou gamma globulines du profil électrophorétique des patients atteints de MM illustré dans la figure suivante :

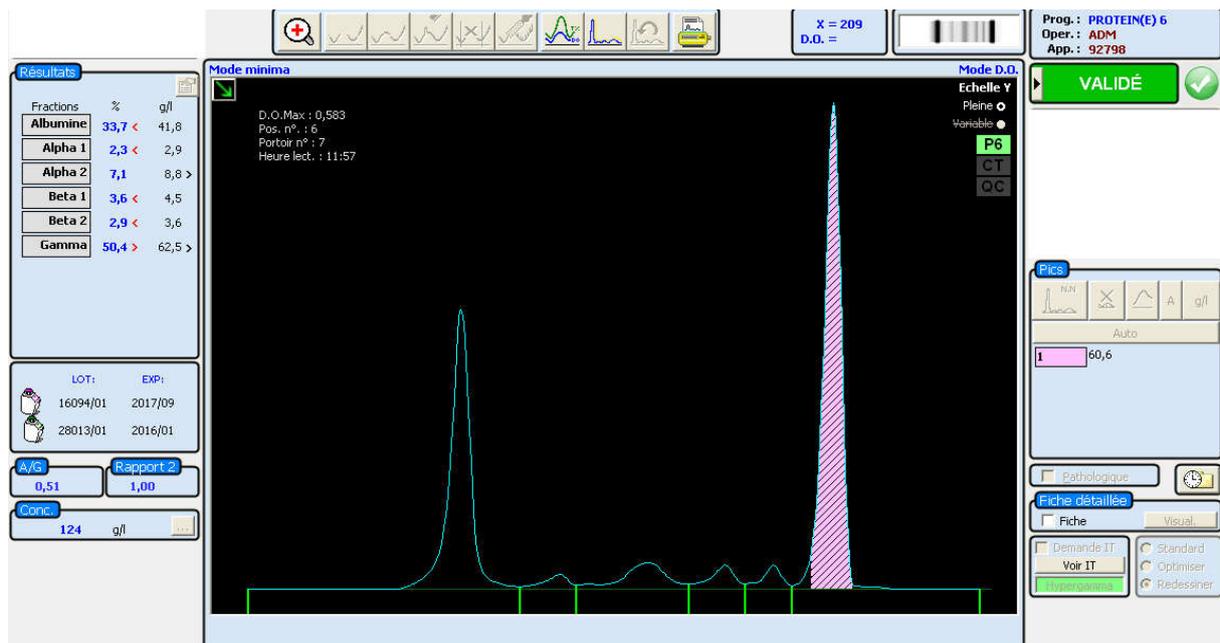


Figure 24 : Exemple d'un pic monoclonal sur un tracé électrophorétique.

6.5.4. Immunotypage par immunosoustraction

6.5.4.1. Principe

L'immunotypage permet la détection et la caractérisation en milieu basique (pH 9,9) des protéines monoclonales dans le sérum humain par électrophorèse capillaire, permettant une séparation des protéines en six fractions majeures (**Annexe 3**).

Le système CAPILLARYS permet de réaliser toutes les séquences de l'électrophorèse jusqu'à l'obtention des profils protéiques pour l'analyse qualitative. Chaque échantillon de sérum à analyser est mis en contact avec les antisérums des différentes spécificités, anti-chaînes lourdes gamma (Ig G), alpha (Ig A) et mu (Ig M) et anti-chaînes légères kappa et lambda (libres et liées).

Toutes les protéines, séparées dans des capillaires en silice fondue, sont détectées directement au niveau d'une cellule sur le capillaire par spectrophotométrie d'absorbance à 200 nm.

Les profils électrophorétiques sont ensuite analysés visuellement pour détecter les anomalies et caractériser les protéines monoclonales mises en évidence (SADOUKE, 2009).

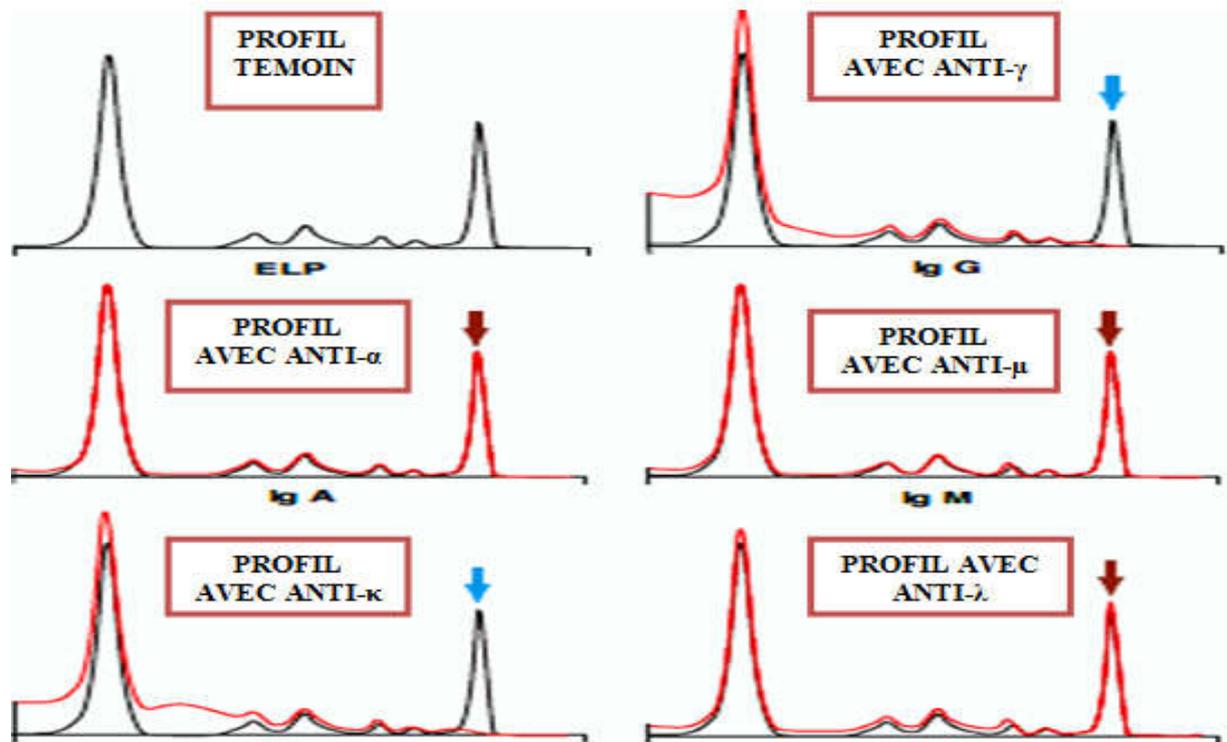


Figure 25 : Résultat de l'immunotypage par immunosoustraction sur le Capillarys révélant un MM IgG/ Kappa. (SEBIA, 2014)

6.5.5. Dosage du calcium dans le sang

Pour chaque échantillon, le dosage du calcium a été effectué sur l'analyseur Architect ci 4100 (Figure 20). Ce qui permet de déceler une hypercalcémie en cas de myélome multiple.

La mesure par spectrophotométrie de complexes calciums colorés a été élaborée afin de quantifier avec précision le calcium. Comme colorant utilisé pour la mesure du calcium, on peut citer le réactif Arsenazo III, ce dernier étant utilisé dans ce dosage.

6.5.5.1. Principes

Le colorant Arsenazo III réagit avec le calcium dans une solution acide pour former un complexe bleu-pourpre. La couleur qui se développe est mesurée à 660 nm. Elle est proportionnelle à la concentration en calcium dans l'échantillon.

• Valeurs de référence

- Enfant < 3 ans : 2.2 - 2.7 mmol /l soit (88 – 110 mg/l);
- 3 ans et adulte : 2.2 - 2.6 mmol /l 90 - 105 mg /l

6.5.6. Dosage de l'urée

Le dosage de l'azote de l'urée a été effectué pour chaque échantillon et a été utilisé sur Architect ci 4100 pour la quantification de l'azote uréique dans le sérum humain de chacun de nos patients.

6.5.6.1. Principe

Le dosage de l'azote de l'urée est réalisé par le suivi de la modification totale d'un mode opératoire enzymatique. Le test est réalisé comme un essai cinétique dans lequel la vitesse initiale de la réaction est linéaire pour une période limitée de time. L'urée dans l'échantillon est hydrolysée par l'uréase en ammoniac et en dioxyde de carbone. La seconde réaction catalysée par le glutamate déshydrogénase convertit l'ammoniac et de l'alpha-cetoglutarate en glutamate et en eau avec l'oxydation concomitante du Nicotinamide dinucléotide (NADH) réduit en dinucléotide d'adénine nicotinamide (NAD). Deux moles de NADH sont oxydées pour chaque mole d'urée présente. La vitesse initiale de diminution de l'absorbance à 340 nm est proportionnelle à la concentration d'urée dans la simple, (MORLON, 2010).

- **Valeurs normales de l'urée dans le sang**

- Homme : 3 à 8,33 mmol/l soit 0.18 à 0.50 g/l ;
- Femme : 2.5 à 8.33 mmol/l soit 0.15 à 0.50 g/l.

6.5.7. Dosage de la créatinine

Pour la quantification de la créatinine dans le sérum de chacun de nos patients, nous avons dosé ce paramètre sur l'automate Architect ci 4100.

6.5.7.1. Principe

A pH alcalin, la créatinine dans l'échantillon réagit avec le picrate pour former un complexe créatinine-picrate. Le taux d'augmentation de l'absorbance à 500 nm due à la formation de ce complexe est directement proportionnel à la concentration de créatinine dans l'échantillon, (AMELLAL *et al*, 2014).

- **Les valeurs normales de la créatinine dans le sang**

- 50 à 100 $\mu\text{mol/l}$ chez la femme adulte (soit 6 à 11 mg/l) ;
- 65 à 120 $\mu\text{mol/l}$ chez l'homme adulte (soit 7 à 14 mg/l).

6.5.8. Dosage de la vitesse de sédimentation ou VS

La vitesse de sédimentation est le temps nécessaire aux éléments cellulaires sanguins (globules blancs, globules rouges et plaquettes) pour sédimenter c'est-à-dire, pour tomber librement au bas d'une colonne de sang non coagulé (grâce à l'anticoagulant utilisé pour le prélèvement : citrate trisodique). Elle est exprimée en hauteur de cellules sédimentées mesurée au bout d'1 heure et de 2 heures. C'est un élément d'orientation diagnostique, non spécifique mais simple à réaliser, concernant le nombre de globules rouges et leur volume, le taux de certaines protéines et la viscosité du sang.

Principe

On remplit le tube de sang à une hauteur précise en suite on enfonce les pipettes dans ce tube et le sang monte dans la colonne maintenue verticale jusqu'au zéro en suite on fait une lecture à la première heure, puis à la deuxième heure. (CHERIFI *et al*, 2013).

Les valeurs normales moyennes : VS à la 1ère heure < 7 mm et à la 2ème heure < 20 mm

6.5.9. Dosage de l'hémoglobine

La mesure de la concentration en hémoglobine dans le sang est importante en tant qu'étape initiale dans la détection des anémies ou d'érythrocytoses.

Principe : La détermination photométrique de l'Hb dans les instruments de chevet par la méthode colorimétrique reconnue comme méthode de référence par le comité international pour la standardisation en hématologie. Le Fe^{2+} de l'hémoglobine est oxydé en Fe^{3+} de la méthémoglobine par le ferricyanide, et la méthémoglobine réagit alors avec le cyanure de potassium (KCN) pour former la cyanméthémoglobine, un composé très stable. L'absorbance de la cyanméthémoglobine, directement proportionnelle à la concentration en hémoglobine, est mesurée à 546 nm (520-560) (CHERIFI *et al*, 2013).

6.5.10. Les outils statistiques

- **Excel 2007 :** utilisé pour le calcul des fréquences des variables quantitatives et pour les tests de corrélation entre les différents paramètres
- **Le test de khi deux par le logiciel Compare 2 :** Pour la comparaison des fréquences. La correction de Yates est utilisée pour les échantillons réduits.
- Pour chaque test statistique utilisé, le test était considéré comme significatif lorsque p value est inférieur à 0,05.

CHAPITRE VII

RESULTATS

7.1.Aspect épidémiologique

7.1.1. Répartition des patients selon l'âge :

L'âge moyen des patients de la série étudiée au moment du diagnostic est de 66 ± 11.66 ans avec des extrêmes d'âge de 43 et 89 ans. La figure 26 montre un aspect pyramidal, avec un pic de fréquence dans la tranche d'âge comprise entre 60 et 70 ans. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 26 :

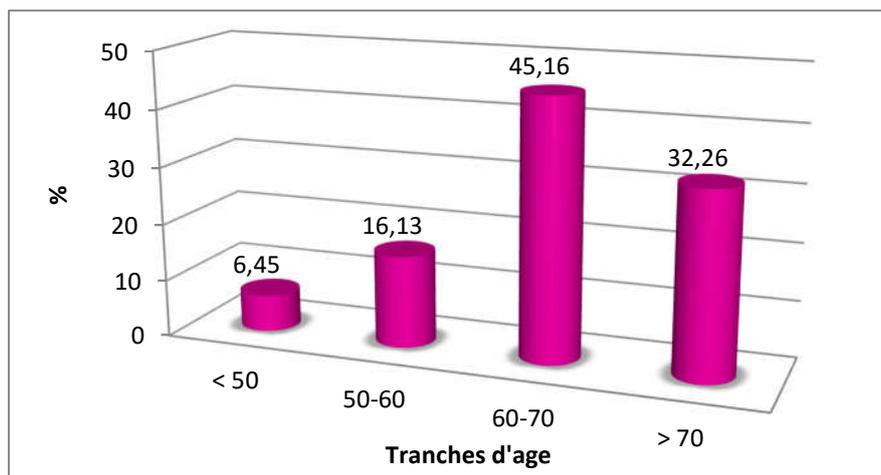


Figure 26 : Répartition des patients selon l'âge.

7.1.2. Répartition des patients selon le sexe :

Tableau IX : Répartition des patients selon le sexe

SEXE	NOMBRE DE PATIENTS	%
HOMMES	17	54.84
FEMMES	14	45.16

La série étudiée comprend 17 patients de sexe masculin et 14 de sexe féminin, soit respectivement 54.84 % et 45.16 % de l'ensemble des cas (tableau IX). Le sex-ratio est de 1.21 H/F. Le tableau IX montre la répartition selon le sexe des cas de MM à IgA de notre série.

7.1.3. Distribution des patients en fonction du sexe et des groupes d'âges :

Un pic de fréquence est observé chez les femmes à plus de 70 ans, et chez les hommes entre 60-70 ans. La (figure 27) montre la distribution en fonction du sexe et des groupes d'âges.

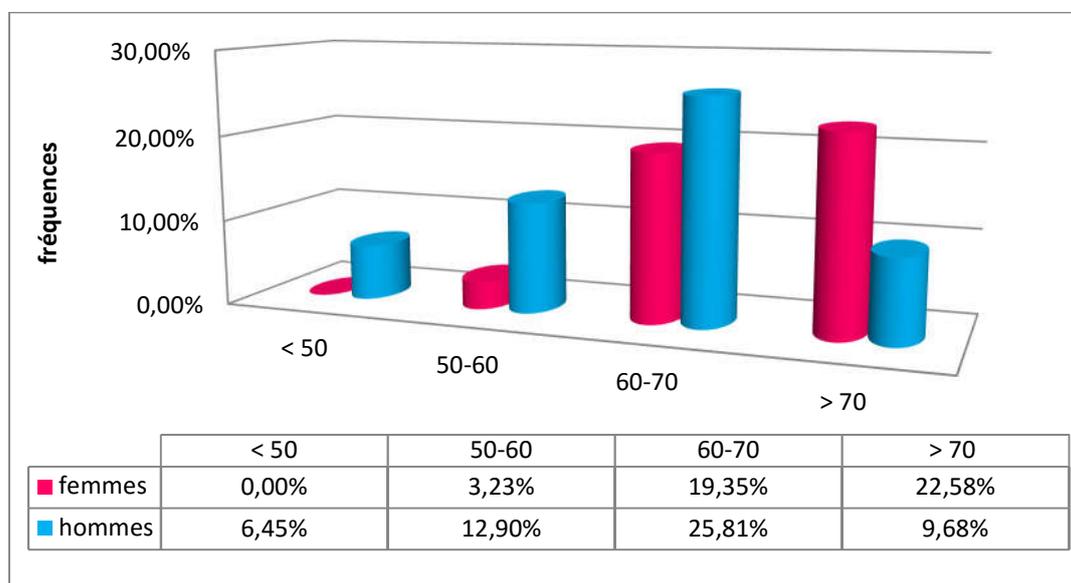


Figure 27 : Représentation graphique de la répartition des patients en fonction du sexe et des tranches d'âge.

7.1.4. Répartition des patients selon le service d'admission

La majorité des patients sont suivis au niveau du service d'hématologie (77.42 %). Les patients admis par le biais des consultations spécialisées, représentent 6.45 % de l'ensemble des patients de l'étude. Pour chacun de ces services : cardiologie, maladies infectieuses, néphrologie, chirurgie thoracique et le service de traumatologie (unité Belloua) 3.23 % des patients ont été recensés (tableau X).

Tableau X : Répartition des patients selon le service d'admission.

SERVICE	NOMBRE DE PATIENTS	%
CARDIOLOGIE	1	3.23
CONSULTATIONS SPECIALIEES	2	6.45
HEMATOLOGIE	24	77.42
MALADIES INFECTIEUSES	1	3.23
NEPHROLOGIE	1	3.23
UNITE BELLOUA	1	3.23
CHIRURGIE THORACIQUE COTE FEMME	1	3.23

7.2. Paramètres immunologiques

7.2.1. Les résultats de l'EPP sanguins

7.2.1.1. Répartition des patients selon la zone de migration de CM

Un pic électrophorétique reflète de la sécrétion monoclonale est observé chez tous les patients de notre série, parmi lesquels 23 présentaient un pic dans la zone des betas globulines, 7 en gammaglobuline, pour 1 patient le pic migre en alpha-2 globuline. Les résultats de l'EPP sérique retrouvés sont rapportés sur la figure 28.

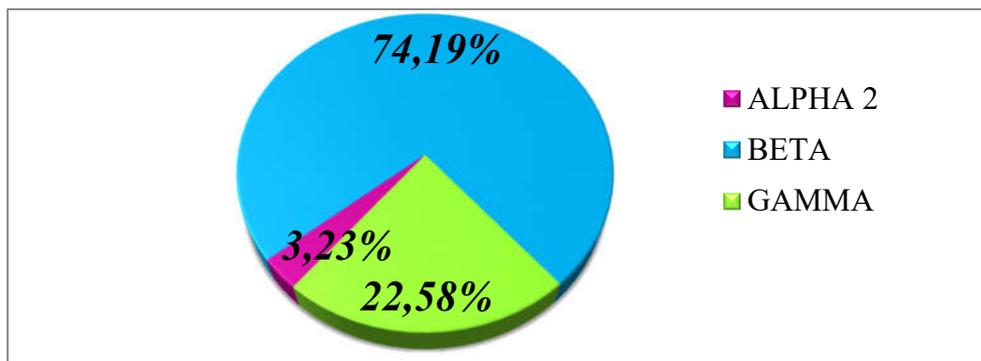


Figure 28 : Représentation graphique de la répartition des patients selon la zone de migration du CM

La figure 29 représente un exemple de profile pour chaque zone de migration du CM

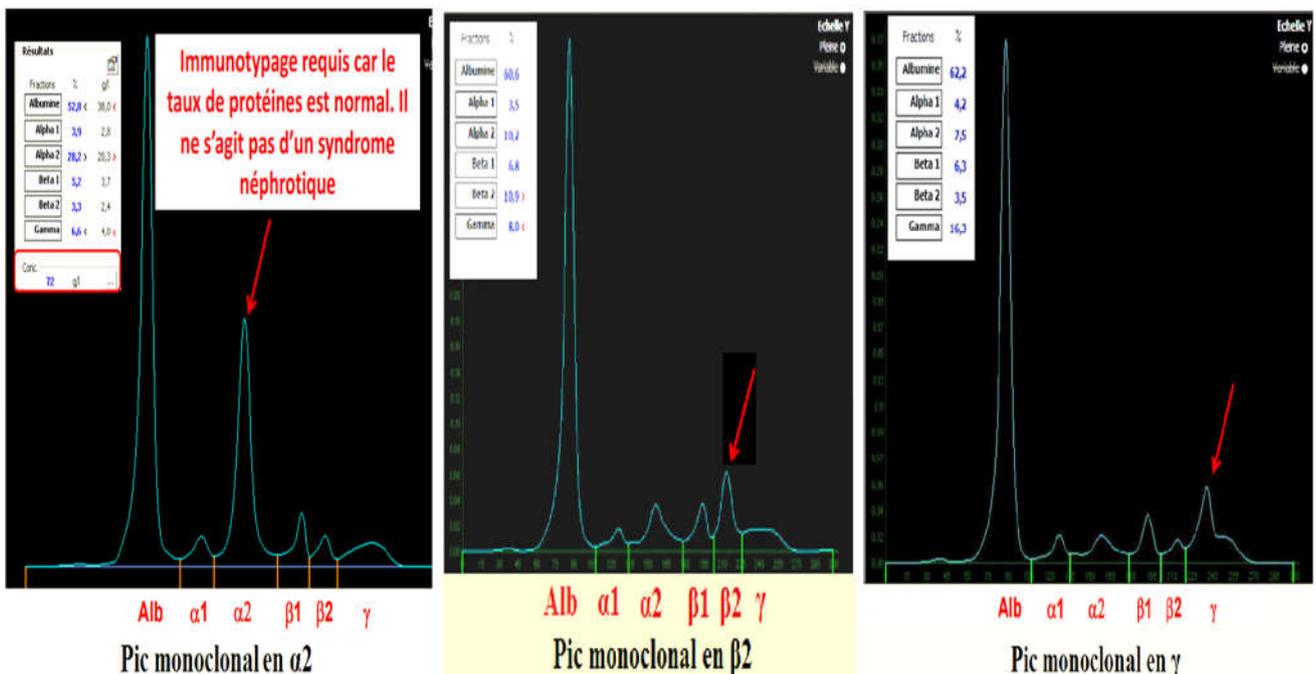


Figure 29 : exemples de profiles pour chaque zone de migration (SEBIA, 2014).

7.2.1.2. Répartition des patients selon l'hypogammaglobulinémie polyclonale

L'hypogammaglobulinémie est quantifiée comme suit :

- Si le pic monoclonal est observé dans la zone des gammaglobulines :

L'hypogammaglobulinémie = (Le taux de gammaglobulines totales – la concentration du composant monoclonal) ;

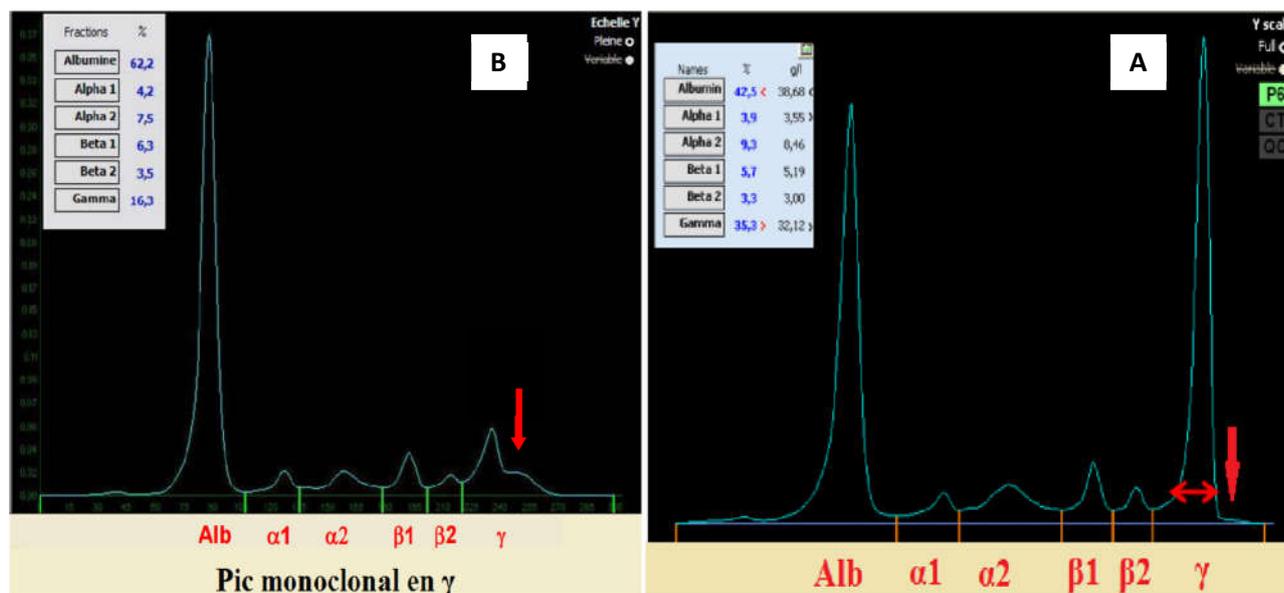
- Si le pic est noté dans la zone des beta-globulines :

L'hypogammaglobulinémie = Le taux de gammaglobulines totales.

Tableau XI : Répartition des patients selon l'hypogammaglobulinémie

HYPOGAMMAGLOBULINEMIE POLYCLONALE	NOMBRE DE PATIENTS	%
ABSENTE	3	9.68
PRESENTE	28	90.32

Chez 28 patients soit 90.32 %, l'électrophorèse des protides montre une hypogammaglobulinémie polyclonale, cette dernière qui est absente chez 9.68 % de nos patients. La figure 30 représente des profils pour deux pic monoclonaux dans la zone des γ , (A) présente une hypogammaglobulinémie polyclonale et (B) non.



7.2.2. Résultats de l'immunotypage :

7.2.2.1. Distribution des composants monoclonaux de type IgA en fonction du type de CL

Tableau XII : Répartition des patients selon le type de chaîne légère

COMPOSANT MONOCLONALE	NOMBRE	%
IgA Kappa	11	35.48
IgA Lambda	20	64.52

Les résultats de l'immunotypage obtenus pour l'intégralité de notre série montrent une légère prédominance des chaînes légères lambda (λ) (64.52 %) par rapport aux chaînes (κ) (35.48 %).

7.2.2.2. Répartition des patients selon la concentration du CM

Les résultats obtenus montrent que 70.97 % des patients présentent une concentration inférieure à 30 g/l. Certaines concentrations dépassent 30g/l avec un pourcentage de 29.03 %, parmi lesquelles 4 patients (12.90%) présentent des concentrations supérieurs à 50g/l Ces résultats sont illustrés dans la figure 29 :

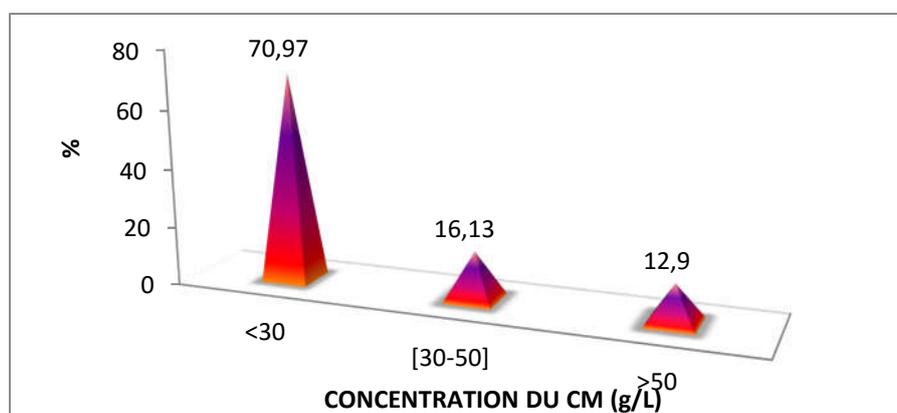


Figure 31 : Représentation graphique de la répartition des patients selon la concentration du CM.

7.3. Paramètres biochimiques

7.3.1. Résultats de l'exploration des taux de protides :

L'hyperprotidémie est observée chez 29.03 % des patients. Cependant, 8 cas d'hypoprotidémie ont été rapportés soit (25.8 %). Les résultats obtenus sont résumés dans la figure 30 :

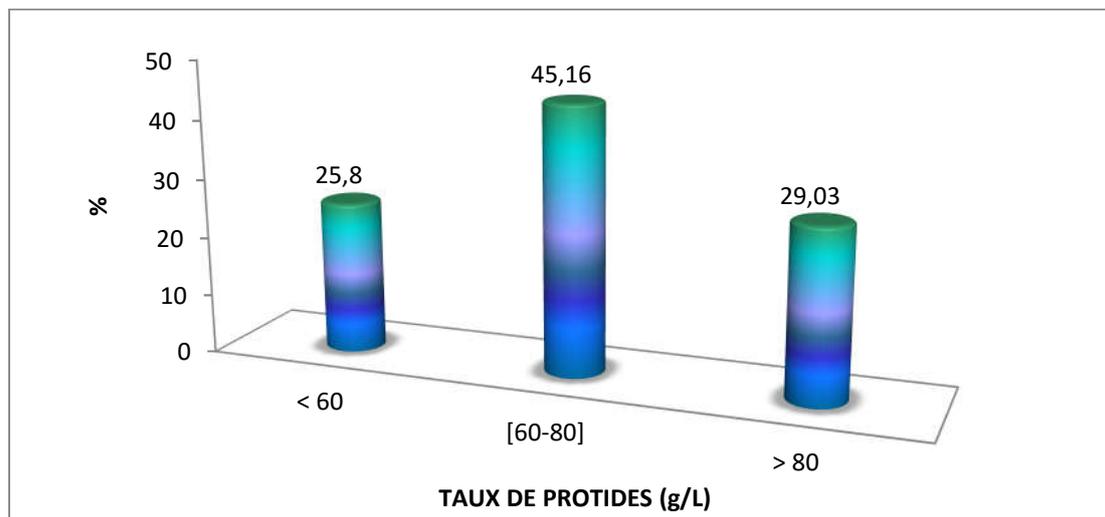


Figure 32 : Représentation graphique de la répartition des patients selon le taux de protides

7.3.2. Répartition des patients selon le taux d'albumine

Tableau XIII : Répartition des patients selon le taux d'albumine

ALBUMINE (g/L)	NOMBRE DE PATIENTS	%
< 35	21	67.74
≥ 35	10	32.25

L'hypoalbuminémie a été trouvée chez 21 patients de notre série. Soit 67.74 % des cas.

7.3.3. Répartition des patients selon la VS

Elle était accélérée à la première heure chez 22 patients soit 70.97%, parmi les quels 32.26% avaient une VS >100 mm. Chez 9 malades cette VS n'était pas significative < 20 mm. Les résultats obtenus sont résumés dans la figure 31 :

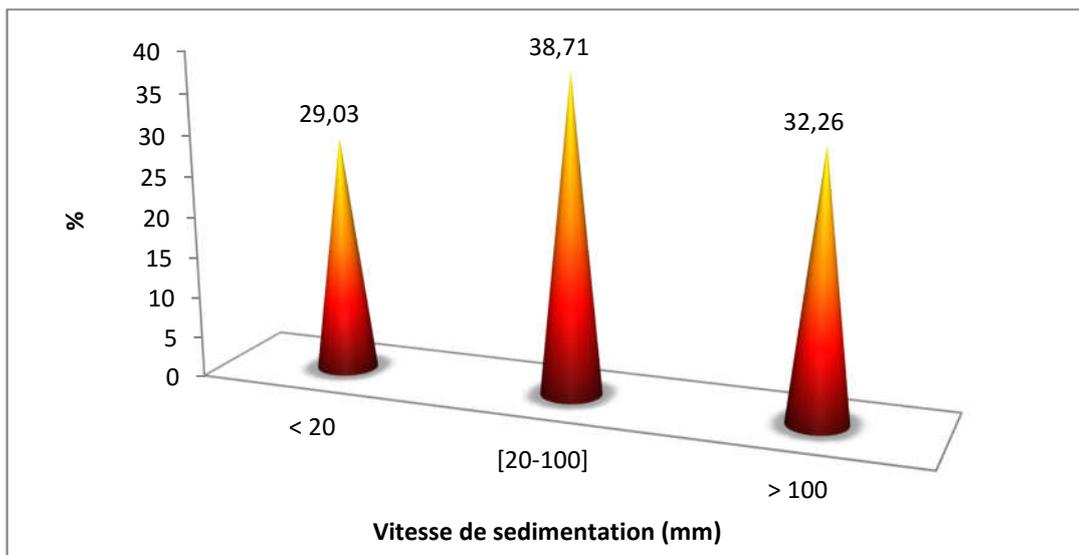


Figure 33 : Représentation graphique de la répartition des patients selon la VS.

7.3.4. Répartition des patients selon la calcémie

Tableau XIV : Résultats de l'exploration du taux de calcémie

CALCEMIE mg/L	NOMBRE DE PATIENTS	%
< 115	20	64.52
≥ 115	11	35.48

L'hypercalcémie (calcémie > 115 mg/l) reflet de l'ostéolyse est trouvée chez 11 patients soit 35.48 % des cas.

Vue la fréquence de l'hypoalbuminémie, la calcémie a été corrigée suivant la formule :
 Calcémie corrigée = [Calcémie dosée + 0.025 (40- Albuminémie)] × 40 ; Avec calcémie dosée en mmol/l, et albuminémie en g/l.

7.3.5. Répartition des patients selon la fonction rénale

Tableau XV : Résultats de l'exploration de la fonction rénale

Fonction rénale Urée en g/l Créa en mg/l	Urée<0.50 Créatine<20	Urée≥0.50 Créatine <20	Urée<0.50 Créatine≥20	Urée ≥0.50 Créatine≥20
Nombre de cas	18	7	0	6
%	58.06	22.58	0	19.35

Le Bilan rénal a montré quant à lui, une créatinémie \geq à 20 mg/l et/ou un taux d'urée \geq 0.5g/l chez 13 patients soit 41.93%

7.3.6. Répartition des patients selon le taux d'hémoglobine

Le taux d'hémoglobine a été mesuré chez 17 patients, il était $<$ 8.5 g/dl chez 9 malades soit 52.94%. 6 malades présentaient un taux modéré d'hémoglobine (entre 8.5 et 10 g/dl).le nombre de patients a hémoglobine supérieur a 10g/dl est de 2. Chez 14 malades le taux d'hémoglobine n'était pas déterminé. Les résultats obtenus sont rapportés dans la figure 30 :

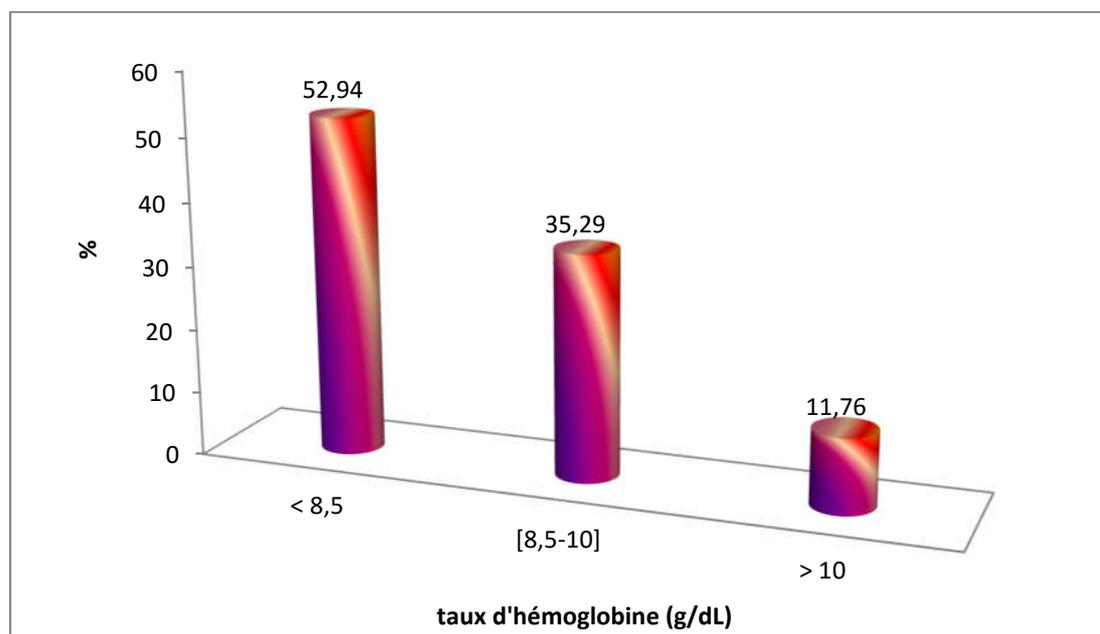


Figure 34 : Représentation graphique de la répartition des patients selon le taux d'hémoglobine.

7.4. Paramètres anatomocytopathologiques

7.4.1. Répartition des patients selon la plasmocytose

Tableau XVI : Résultats d'exploration de la plasmocytose médullaire.

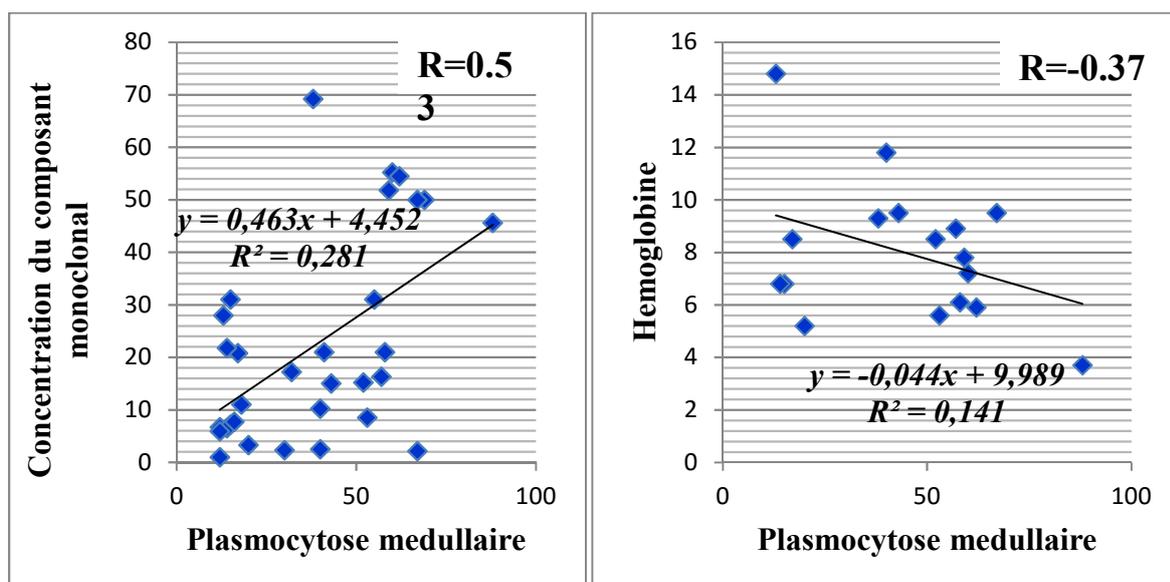
Plasmocytose	Nombre de patients	%
<10	0	0
[10-30]	13	41,94
≥30	18	58,06

La plasmocytose médullaire > 10% est notée chez tous nos patients, parmi lesquelles 18 (58.06%) ont une plasmocytose supérieure à 30 %.

7.5. Etude de la distribution des fréquences des différents paramètres biologiques en fonction de la plasmocytose et de la concentration du CM

Dans cette étude nous avons pris en compte différents paramètres biologiques, afin de chiffrer la corrélation entre ces paramètres et la plasmocytose médullaire, ainsi que la concentration du composant monoclonal, les résultats obtenus sont rapportés dans les figures (33, 34) :

7.5.1. Corrélations non significatives



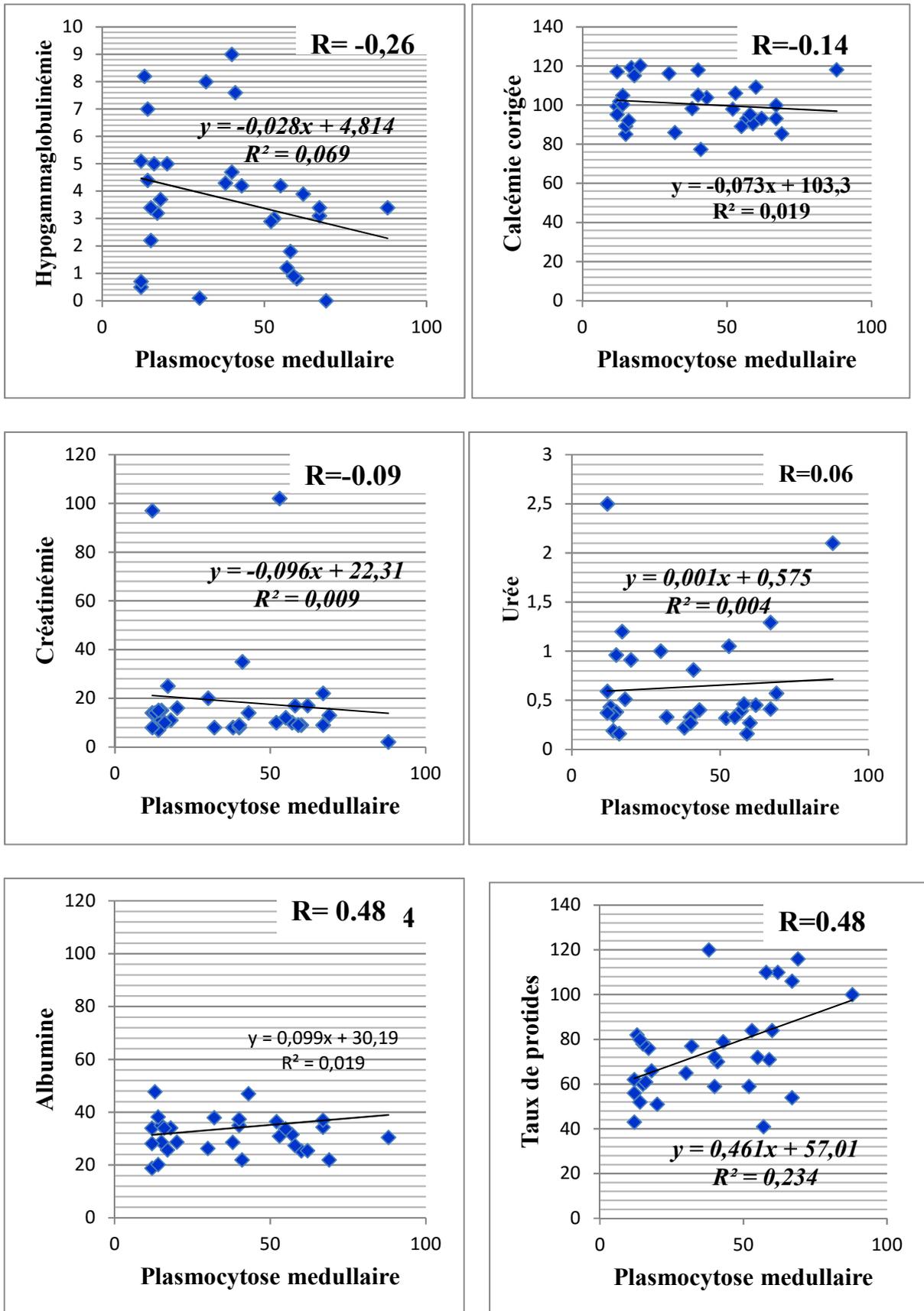


Figure 35 : Représentation graphique de la corrélation entre la plasmocytose médullaire et différents paramètres biologiques.

7.5.2. Corrélations significatives

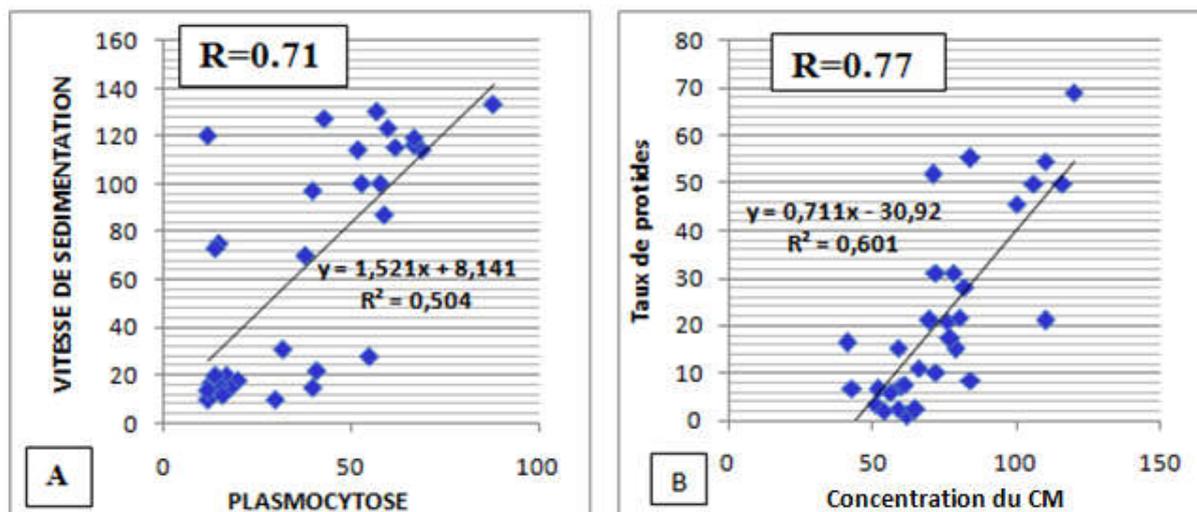


Figure 36 : représentation graphique des corrélations significatives

A- entre la plasmocytose médullaire et la vitesse de sédimentation.

B- entre la concentration du CM et la protidémie.

7.6. Etude comparative des deux sous populations de patients, MM à IgG vs MM à IgA :

Des études ont démontré que le myélome à Ig A est différent du myélome à Ig G en termes des caractéristiques de la maladie (Jacobson JL, 2003), (Pasqualetti, et al., 1991), (Sirohi, et al., 2001). Les résultats d'une étude internationale portant sur 2375 myélomes à Ig A et 5894 myélomes à Ig G, montrent une médiane de survie de 40 mois chez les patients à Ig A et de 49 mois chez les patients à IgG. La cause de cette différence n'a pas été explorée (Jeong Eun, et al., 2010). Cela nous a poussés à comparer, dans notre étude entre deux sous-groupes de patients (MM à IgG Vs MM à IgA).

Le tableau suivant regroupe les différents signes révélateurs, étiologiques et/ou biologiques, qui constituent très souvent des motifs d'hospitalisation, ainsi que leurs fréquences dans la population étudiée :

Tableau XVII : Etude comparative de deux populations de MM à Ig G vs MM à Ig A.

		MM Ig A (N= 31)	MM Ig G (N= 31)	P
AGE	< 50	2 (6.45%)	6(19.35%)	0.25
	50-60	5 (16.13%)	5(16.13%)	1
	60-70	13 (41.94%)	8(25.81%)	0.28
	> 70	10 (32.26%)	12(38.71%)	0.79
Sexe	H	17(54,84%)	15(48.39%)	0.79
	F	14(45,16%)	16(51.61%)	0.79
Zone de migration	α	1(3.23%)	0(0%)	/
	β	26(83.87%)	3(9.68%)	2.1 10⁻⁸
	γ	4(12.9%)	28(90.32%)	5.1 10⁻⁹
[CM] « g/l »	< 30	22(70.97%)	20(64.52%)	0.58
	30-50	5(16.13%)	9(29.03%)	0.36
	> 50	4(12.90%)	2(6.45%)	0.66
TP « g/l »	< 60	8(25.81%)	2(6.45%)	0.08
	60-80	14(45.16%)	11(35.48%)	0.43
	> 80	9(29.03%)	18(58.06%)	0.04
ALB « g/l »	< 35	21(67.74%)	11(35.48%)	0.01
	≥ 35	10(32.26%)	20(64.52%)	0.01
Hypogammaglobulinémie «g/l»	< 8	28(90.32%)	30(96.77%)	0.3
Chaines légères	κ	11(35.48%)	17(54.84%)	0.12
	λ	20(64.52%)	14(45.16%)	0.12
V S « mm»	< 20	9(29.03%)	0(0.00%)	/
	20-100	12 (38.71%)	6(19.35%)	0.09
	> 100	10(32.26%)	24(77.42%)	3.5 10⁻⁴
UREE « g/l »	< 0.5	19(61.29%)	20(64.52%)	0.79
	≥ 0.5	12(38.71%)	11(35.48%)	0.79
CREATININE «mg/l »	< 20	25(80.65%)	23(74.19%)	0.54
	≥ 20	6(19.35%)	8(25.81%)	0.76
CALCEMIE «mg/l»	< 115	20(64.52%)	26(83.87%)	0.08
	≥ 115	11(35.48%)	5(16.13%)	0.14
HB g/dl	< 8.5	9(52.94%)	12(38.71%)	0.34
	≥ 8.5	8(47.06%)	19(61.29%)	0.51
	Non déterminé	14(45.16%)	0(0.00%)	/
PLASMOCYTOSE	< 10	0(0.00%)	0(0.00%)	0
	[10-30]	13(41.94%)	13(41.94%)	1
	>30	18 (58.06%)	18(58.06%)	1

7.7. Apport du traitement des échantillons sériques par le β mércaptoéthanol (BME) dans l'exploration du MM

Le BME est un agent réducteur qui exerce une action dénaturante sur les protéines polymérisées (Notamment les Ig d'isotype IgA, IgM et chaînes légères libres), en rompant les ponts disulfures inter-caténares ce qui désorganise leur structure tridimensionnelle.

On l'utilise souvent devant la présence à l'EPP de deux composants monoclonaux de même chaîne lourde et même chaîne légère, pour distinguer entre un myélome biclonal et un myélome avec un composant monoclonal polymérisé.

Dans notre série nous avons enregistré 1 cas de composant polymérisé d'isotype IgA.

7.7.1. A propos d'un cas

Il s'agit du patient A.B âgé de 89 ans, adressé à notre niveau pour suspicion d'un myélome multiple. Une électrophorèse des protéines sériques a été faite (figure 35a), objectivant, deux composants monoclonaux. Les résultats de l'immunotypage pour le patient A.B (figure 36) montrent qu'il s'agit de deux composants monoclonaux de classe IgA à CL kappa, le premier migrant dans la zone des beta-2-globulines, le second dans la zone des gammaglobulines, accompagné d'un effondrement des immunoglobulines polyclonales. Il conviendra d'effectuer un traitement réducteur au BME et de renouveler l'immunotypage pour confirmer la présence d'une seule anomalie. Dans ce cas, préparer une solution réductrice en ajoutant 1 % de BME dans de l'eau distillée. Le système CAPILLARYS en attente de portoir, prétraiter l'échantillon par cette solution en ajoutant 50 μ L de solution réductrice à 450 μ L de sérum pur. Agiter au vortex et laisser en contact 15 minutes maximum puis suivre la technique.

Le profil du patient a révélé un pic monoclonal dans la zone des beta-1globulines. La disparition du pic dans la zone des gammaglobulines avec l'un des anti-chaînes lourdes et avec l'un des anti-chaînes légères est caractéristique d'une polymérisation des Ig (figure 35b).

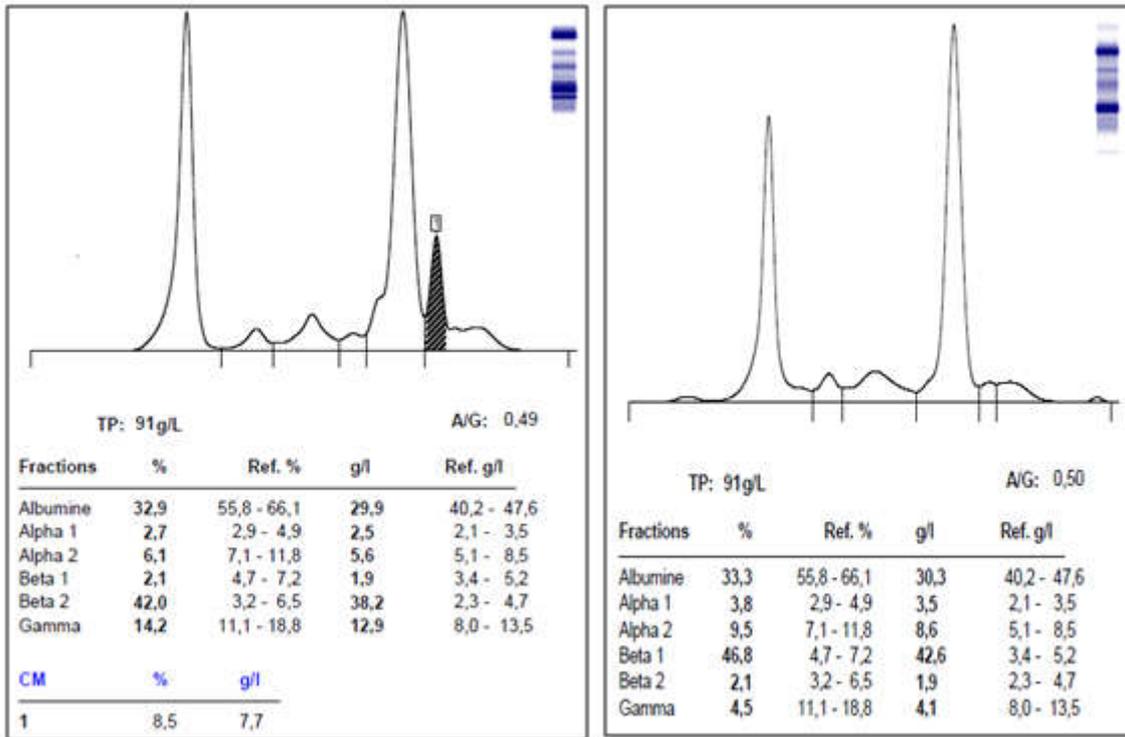


Figure 37 : Electrophorèse des protéines sériques du patient A.B
A-en conditions natives. **B**-après traitement réducteur au BME.

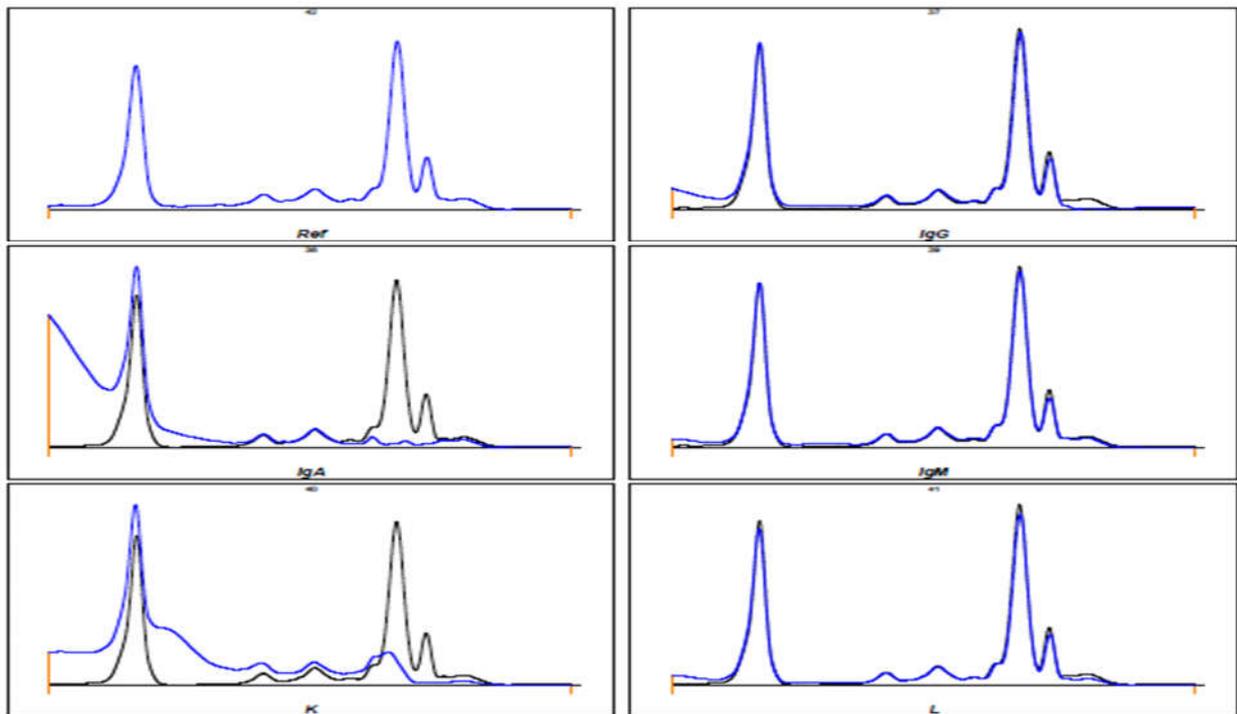


Figure 38 : Résultat de l'immunotypage du patient A.B.

CHAPITRE VIII
DISCUSSION

8.1. Discussion

Dans la présente étude, l'âge moyen du diagnostic des patients atteints d'un MM à IgA est de 66 ans (± 11.66) avec des extrêmes d'âge de 43 et 89 ans. Ce chiffre est en accord avec l'étude Algérienne (BEKADJA, 2009), l'étude tunisienne (BOUATAY et al ; 2013), l'étude française (BATAILLE et al ; 1979) qui présentent une moyenne d'âge de 67, et 65 ans respectivement. Le pic de fréquence, selon la tranche d'âge est différent d'une étude à l'autre, situé entre 60 et 70 ans dans la série tunisienne, (BOUATAY et al ; 2013) ; marocaines, (EL MEZOUAR, 2010) ; (TOUAOUSSA A. , 2015) et la nôtre. Tout cela permet de conforter les données de la littérature selon lesquelles le MM est majoritairement une maladie du sujet âgé : 77.42% de nos patients ont plus de 60 ans.

Ces données illustrent l'impact positif de la réponse au traitement sur la survie avec des traitements de première ligne ou de rechute, avec des chimiothérapies conventionnelles, des traitements intensifs avec autogreffe mais également avec les nouvelles drogues du myélome (DECAUX, 2009). Ce phénomène pourrait aussi s'expliquer par le fait que depuis 1970, on note une diminution de la fécondité et une augmentation de l'espérance de vie à 60 ans. Ceci entraîne un vieillissement de la population qui associé au fait que l'incidence du MM augmente avec l'âge, explique le nombre élevé de patients chez les sujets âgés. D'autre part, l'amélioration des conditions d'hygiène pourrait expliquer la diminution de l'incidence chez les sujets Jeunes (GÛEYE, 2001).

En revanche il est intéressant de noter que d'autres études notamment l'étude marocaine de (EL MEZOUAR, 2010), l'étude américaine de (KYLE, 1975) et l'étude sénégalaise (GÛEYE, 2001) affichent une moyenne d'âge moindre variant entre 55 et 62 ans.

En effet, si l'on s'intéresse aux patients les plus jeunes, on constate que la part représentée par les moins de 50 ans reste relativement faible puisque l'on dénombre 2 cas.

Ceci s'expliquerait par l'hétérogénéité des critères de réponse utilisés lors de ces études (SWOG, EMBT, ECOG...) qui rend difficiles les comparaisons entre elles.

L'IMWG a proposé récemment une nouvelle définition des critères de réponse qui devrait être adopté pour tous les essais futurs, permettent une meilleure comparabilité entre les études (DECAUX, 2009). Ce phénomène est également expliqué par l'importance des stimulations antigéniques dans ces diverses régions. En effet les mauvaises

conditions d'hygiène et d'alimentation entraînent dès l'enfance une augmentation des maladies infectieuses. Ces affections s'accompagnent d'une stimulation antigénique intense qui favorise la différenciation et la prolifération des lymphocytes B. Cette accentuation de la multiplication cellulaire constitue un facteur important dans la carcinogénèse. Elle aboutit à plus ou moins long terme à la naissance d'un clone cellulaire anormal qui échappe aux facteurs de régulation de l'immunité (GÜEYE, 2001).

Quant au sexe ratio de notre population de patients atteints de MM a IgA, il est de 1.21 avec une prédominance masculine, ceci rejoint les données de la littérature (sexe ratio proche de 1.4) (MORLON, 2010). Cette légère prédominance masculine a été déjà rapportée par certaines études notamment celles de (Bekadja, 2009) (1.05), d' (EL MEZOUAR, 2010) (1.23), de (KYLE, 1975) (1.5) et celle de (Bouatay et al ; 2013) (1.7).

L'analyse des résultats de l'électrophorèse des protéines sérique des patients de notre étude montre que la plupart (74.19%) migrent dans la région des β -globuline ceci peut être expliqué par le fait que l'IgA présente un poids moléculaire plus élevé que les Ig migrantes dans la zone des γ -globuline. Par ailleurs nous avons enregistré certains cas avec des composants monoclonaux migrant dans d'autres zones (γ et α -2 globuline). La migration des CM constatée, en dehors de la zone habituelle de migration, impose l'analyse attentive des différentes fractions à l'EPP, pour ne pas échapper à un composant de migration inhabituelle (notamment la zone des α -2 protéines).

Parmi les variables biologiques des patients de notre série, la Concentration du CM d'isotype IgA, qui était supérieure à 30g/L chez 29.03% de nos patients dont 12.90% présentent des concentrations supérieurs à 50g/l, ceci représente un critère du diagnostique du MM selon IMWG et un facteur de mauvais pronostique. Pour cette concentration nous avons enregistré une forte corrélation reliée au taux de protide avec un coefficient de corrélation de $R=0.77$. Par ailleurs, cette concentration du CM n'est pas corrélée a la plasmocytose médullaire ($R=0.53$), ceci pourrait être le reflet d'un temps de demi-vie relativement court des immunoglobulines.

L'hyperprotidémie (Protidémie > 80 g/L), est un signe évocateur d'une sécrétion monoclonale ; elle est objectivée chez 29.03 % des patients à isotype IgA, contre 58.33% rapporté par l'étude de (TOUAOUSSA A. , 2015) et 44.4% par celle de (BOUATAY et al ; 2013). Ceci s'explique par l'hypoalbuminémie et à l'augmentation de la VS liés a l'IgA.

Cependant, un TP normal ou bas est retrouvé chez 70.96 %, ceci nous mène à dire qu'un TP normal ou bas n'élimine pas un éventuel myélome multiple.

L'hypogammaglobulinémie polyclonale reflète la prolifération excessive du plasmocyte malin qui provoque un étouffement des autres isotypes, entraînant ainsi un effondrement de la production de ces derniers. Cette déficience est courante dans le cas du MM et génère de fréquents problèmes infectieux. On a noté une hypogammaglobulinémie chez 90.32% des patients, concordante avec la série de (MORLON, 2010) (90%).

De même, en raison du temps de demi-vie des Ig aucune corrélation n'est notée entre la prolifération plasmocytaire et l'hypogammaglobulinémie.

L'immunotypage des protéines sériques permet d'identifier la protéine monoclonale par sa chaîne lourde et sa chaîne légère. Environ 64.52% de nos patients sont de type lambda contre 35.48% de type kappa, ainsi, contrairement aux données de la littérature, le type lambda est presque deux fois plus fréquent que le type kappa.

Le taux d'albumine sérique est un facteur biologique de mauvais pronostic selon plusieurs études (KYLE et al ; 2003) et l'un des deux critères pris en compte dans l'ISS. Une hypoalbuminémie (albumine < 35 g/l) est retrouvée chez 67.74 % des patients atteints de MM à IgA de notre étude avec une moyenne de 34.02 g/l. Contre 73.33 % des patients de (TOUAOUSSA A. , 2015), 77.5 % de ceux de (BOUAOUAD, 2011) et 87% de ceux de (BOUATAY et al ; 2013). De plus, nous n'avons noté aucune corrélation entre le taux d'albumine et la plasmocytose médullaire, ceci s'expliquerait par le fait que l'IL 6 inhibe faiblement le facteur nucléaire qui devait normalement induire la transcription de gènes codant pour la synthèse de l'albumine au niveau des hépatocytes, (GÛEYE, 2001), de ce fait, l'impact pronostique de l'albumine n'est pas assez bas pour qu'il y ait un impact pronostique apparent.

L'hypercalcémie, témoin des lésions osseuses, est un facteur de mauvais pronostic pour un bon nombre d'équipes (ALEXANIAN, BATAILLE, SALMON ET DURIE). C'est d'ailleurs un des éléments de la classification de DURIE & SALMON. Une hypercalcémie (calcium > 115mg/l) est retrouvée dans près de 20% des cas, (MANIER et al ; 2011). Dans notre étude, l'incidence de l'hypercalcémie est de 35.48%, dont 5 patients hypercalcémiques ont eu une insuffisance rénale. Ces résultats concordent parfaitement avec les résultats rapportés par l'étude marocaine, (BOUAOUAD, 2011) (35%). En revanche d'autres études notamment

marocaines (EL MEZOUAR, 2010), américaine, (KYLE, 1975) et tunisienne, (BOUATAY et al ; 2013) affichent une incidence faible variante entre 14 et 30%.

Il n'existe pas de corrélation entre ce paramètre et la plasmocytose médullaire dans notre série, ce qui pourrait s'expliquer par l'influence des facteurs tels que le système ostéoprotégérine qui a pour rôle l'inhibition de l'activation ostéoclastique induite par le système RANK/RANKL; Comme ça pourrait s'expliquer par une inhibition de la stimulation de la sécrétion de cytokines activatrices des ostéoclastes, telles que les interleukines (IL) : IL-6, l'IL-1, le TNF- β , ou encore des MIP (MIP-1a, MIP-1b) par les plasmocytes.

L'atteinte rénale est fréquente au cours du MM, et pose des problèmes de diagnostic et de choix thérapeutique. Au diagnostic, l'IR est présente chez 20 à 56% des patients à MM à IgA. Dans la classification de Durie et Salmon, le MM est dit de stade B dès qu'il existe une atteinte rénale (créatinine > 20mg/l). Dans notre série, l'IR avec une créatinine \geq 20 mg/l et/ou un taux urée > 0.5, était présente chez 13 patients, soit 41.93%, ce qui concorde avec l'étude centrafricaine (NDOMOCRAH et al ; 2013) (40%), et légèrement augmenté par rapport aux études : marocaine (EL MEZOUAR, 2010) qui affiche 32.7%, tunisienne, (BOUATAY, et al., 2013) (19%) et française, (BATAILLE et al ; 1979) (30.8%).

Les résultats des corrélations entre la plasmocytose médullaire et la créatinémie ainsi que l'urée, n'ont pas été significatifs, cela s'expliquerait par le fait que ces bilans recueillis ont été enregistrés lors des premiers bilans, où l'insuffisance rénale n'en était qu'au premier stade de son évolution, ou ne s'était pas encore manifester.

L'anémie est la manifestation hématologique la plus fréquente au cours du MM. Elle est présente chez 88.26% des patients chez lesquelles le taux d'Hb a été mesuré, et sévère (hémoglobine < 8,5 g/dL) chez 52.94% des cas concordant avec l'étude tunisienne (BOUATAY, et al., 2013) (87%) et marocaine (TOUAOUSSA A. , 2015) (85%) mais très élevée par rapport à celle de (KYLE, 1975) (62%) et l'étude centrafricaine (NDOMOCRAH et al ; 2013)(53.8%). Toutefois, le degré de sévérité de l'anémie diffère d'une étude à une autre. Les résultats que nous avons obtenus montre que la corrélation entre le taux l'Hb et la plasmocytose médullaire est négative et non significative ($R=-0.37$). ceci pourrait s'expliquer par l'hétérogénéité des mécanismes physiopathologiques de l'anémie qui sont intriqués. En effet, elle pourrait résulter d'un phénomène d'hémodilution lié à l'hyperprotéïnémie et de la diminution de la sécrétion de l'EPO consécutive à une insuffisance rénale, mais pas seulement

due à une insuffisance médullaire liée à l'infiltration de la moelle osseuse par des cellules plasmocytaires malignes, comme ça pourrait s'expliquer par le fait que l'Hb n'ai été dosée que chez 17 patients atteints de MM à IgA de notre série.

La leucopénie et la thrombopénie sont rares mais aggravent le pronostic, reflétant une importante masse tumorale, ces données n'ont pas été prises en compte dans notre étude.

La VS est accélérée dans la majorité des cas de MM, supérieure à 20 mm à la première heure et souvent supérieure à 100 mm, Dans notre étude portant sur des patients atteints de myélome multiple a IgA ce paramètre est corrélé a la plasmocytose médullaire, en définitive ce phénomène est directement lié à la présence de la protéine monoclonale sérique.

Une Infiltration plasmocytaire supérieure à 10% au niveau de la moelle osseuse ou au niveau de n'importe quel tissu, fait partie des critères pour poser le diagnostic du myélome symptomatique pour l'IMWG. Une plasmocytose médullaire comprise entre 10 et 30% correspond à un critère mineur de diagnostic de myélome multiple, supérieure à 30% à un critère majeur selon les critères de diagnostic du SWOG.

La répartition selon la plasmocytose médullaire montre que dans tous les cas, cette dernière était révélatrice du MM car tous les patients (100%) avaient une plasmocytose médullaire supérieure à 10%. Ce qui concorde avec les données de la littérature (95% des cas). L'étude centrafricaine (NDOMOCRAH et al ; 2013) affiche la même incidence (100%). D'autres études notamment la tunisienne (BOUATAY et al ; 2013) et l'étude marocaine (BOUAOUAD, 2011) affichent des incidences plus faibles 76% et 80% respectivement.

L'analyse des résultats de la comparaison des caractéristiques des deux populations IgA et IgG montre une différence significative en terme de zone de migration à l'EPP, avec une migration préférentielle des composants monoclonaux d'isotype IgG au niveau de la zone des Gamma-globulines, et une migration des composants à isotype IgA au niveau de la zone des Beta-globulines, mais cela n'exclut pas leur migration au niveau des autres zone, notamment celle des gamma où on retrouve 4 patients présentant un pic monoclonal et celle des alpha-globulines où on a chiffré 1 patient. D'où la nécessité d'une interprétation minutieuse du profil électrophorétique.

L'hyperprotidémie (TP>80) est significativement associée au MM à IgG (P=0.04), ceci pourrait être expliqué par :

- Une hypoalbuminémie associée au myélome multiple à IgA ;
- Ou par un syndrome inflammatoire associé au MM à IgG, justifié par une augmentation de la vitesse de sédimentation à trois chiffres ($P=3.5 \cdot 10^{-4}$).

Par ailleurs, nous avons constaté que l'hypoalbuminémie est associée à des myélomes à Ig A, alors qu'un taux élevé est associé à des myélomes à Ig G.

En ce qui concerne les paramètres épidémiologiques, hématologiques et les autres paramètres biochimiques, aucune différence significative n'a été notée

- **Intérêt des traitements avec des agents réducteurs des échantillons dans l'exploration du MM**

Le traitement des échantillons sériques par des agents réducteurs (Notamment le BME), a un grand intérêt dans l'exploration immunologique du myélome multiple, en particulier dans les situations de présence de deux composants monoclonaux (Exemple, cas rapporté dans l'étude).

Ce traitement nous permet donc de différencier entre un myélome biclonal et un myélome avec un composant monoclonal polymérisé.

Le phénomène de polymérisation est souvent associé à des myélomes à Ig A. selon les résultats des différentes études ; chez les patients atteints de Myélome Multiple avec des composants monoclonaux polymérisés, un syndrome d'hyperviscosité est souvent associé et qui se manifeste par une triade : troubles neurologiques, troubles sensoriels et des manifestations hémorragiques.

CONCLUSION

CONCLUSION

Notre travail de recherche mené sur une cohorte de 31 patients, nous a permis de définir le profil biologique du myélome multiple à IgA au niveau du laboratoire de Biochimie du CHU de tizi ouzou et de confirmer certaines particularités du MM à IgA.

Cette hémopathie maligne constitue la deuxième classe après le MM à IgG en terme de fréquence, elle est caractérisée par la prolifération d'un clone de plasmocytes envahissant la moelle osseuse, qui est à l'origine de la sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale d'isotype IgA, représenté par un pic à l'électrophorèse et identifiée par IT par immunosoustraction. La détection de cette protéine monoclonale constitue la base du diagnostic immunologique de la maladie. L'Ig monoclonale d'isotype IgA est caractérisée par l'hétérogénéité de ses formes moléculaires, elle est souvent organisée en dimères, voire de degré de polymérisation supérieur, comportant souvent une chaîne J.

La paraprotéine d'isotype IgA présente des particularités immunologiques, en effet la recherche du CM impose une lecture minutieuse par l'analyse des différentes zones de migration électrophorétiques.

Le MM a IgA est une pathologie du sujet âgé, néanmoins des atteintes de sujets jeunes ont été observées, avec prédominance masculine.

La présentation biologique de nos patients est superposable à celle de la littérature. Hormis une migration préférentielle du composant monoclonale au niveau des β globulines, la prédominance de la chaîne légère de type λ , l'incidence de l'hyperprotidémie, corrélée au taux du composant monoclonale, qui est faible par rapport aux données rapportées par d'autres études et l'incidence de l'hypercalcémie qui s'affiche plus fréquente par rapport aux données de la littérature.

Sur le plan clinique, Le MM à IgA est associé à des manifestations cliniques diverses (comme le syndrome d'hyper viscosité, néphropathie à IgA... etc.) ;

Malgré les progrès thérapeutiques réels de ces dernières années, la rechute de la maladie est toujours inéluctable, et le MM à IgA reste une maladie incurable à l'heure actuelle. L'on se demande si à l'avenir, il serait également possible de diagnostiquer précocement ce type d'hémopathie afin d'améliorer son pronostic jusqu'ici redoutable.

Il serait donc intéressant de pouvoir compléter ce travail, par une exploitation ultérieure davantage ciblée sur les particularités paracliniques, cytogénétiques et cliniques par tranche

CONCLUSION

d'âge, il serait également intéressant de compléter ce travail de recherche par une exploration immunologiques à la recherche de la protéinurie de Bence Jones au niveau urinaire, qui pourraient permettre de mieux cerner les facteurs de mauvais pronostic des patients présentant un myélome a IgA.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AMELLAL.N, BOUZAR.R. (2014).** APPORT ET INTERET DES DIFFERENTES TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES DANS LE DIAGNOSTIC ET LE SUIVI DE LA MALADIE DE KAHLER. Université M'hamed Bougara de Boumerdes : s.n., 2013-2014.
2. **Audrey BIDE1, Gérald MARIT2, Annie M. BÉRARD1. (2007).** Intérêt du dosage des chaînes légères libres des immunoglobulines. SPECTRA BIOLOGIE. Janvier - Février - Mars 2007, n° 157.
3. **BAKRI, Y. (2012).** Immunologie fondamentale. L'Immunité Adaptative (spécifique): Les mécanismes moléculaires et cellulaires de la réponse immunitaire. Université Mohammed V-Agdal - Rabat : s.n., 2012.
4. **Barillé-Nion, S., & Bataille, R. (2003).** Mécanismes de l'ostéolyse du myélome mutiple : nouvelles perspectives thérapeutiques. Hématologie, 9.
5. **Bataille, R ; Donadio, D ; Morlock, G. (1979).** Myélomes multiples des os : Etude rétrospective des facteurs pronostiques à partir d'une série de 243 malades. Revue de rhumatisme. 1979, 46, pp. 77-83.
6. **Baur Chauberta, Audrey, Delacrétaza, Françoise et Schmidt, Pierre-Michel. (2005).** Myélome multiple. Institut Universitaire de Pathologie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV), Lausanne; Institut Central des Hôpitaux Valaisans, Sion; Service d'Hématologie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV), Lausanne : s.n ; 2005. 5, pp. 309–316.
7. **Bekadja, M.A. (2009).** Le myélome multiple : approche épidémiologique nationale. revue Algérienne d'hématologie.
8. **BENSELAMA, Amel. (2010).** Détection du myélome par électrophorèse de protéines sériques dans l'ouest algérien. université d'oran Algérie : s.n.
9. **Berthou, Christian. (2005).** Immunoglobuline monoclonale.
10. **BERTHOU, Christian. (2006).** Conduite à tenir devant une immunoglobuline monoclonale.
11. **BERTHOU, Christian. (2006).** Myélome multiple.
12. **BLACQUE-BELAIR, ALAIN. (1981).** Dictionnaire médical clinique pharmacologique et thérapeutique. [éd.] Maloine S.A. 27, rue de l'Ecole-de-Médecine, 75006 Paris : s.n.
13. **BOUAOUAD, Majdouline. 2011.** Myélome multiple : données cliniques et thérapeutiques a propos de 40cas colligés à l'hôpital militaire d'instruction mohammed V - rabat. Université mohammed V- faculté de médecine et de pharmacie -rabat- : s.n.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

14. **Bouatay.A, Hizem.A ; Ben Youssef.Y ; Sayari, F ; Braham.N ; Khélif .A, Kortas.M. (2013).** Myélome multiple : aspect clinique, diagnostic biologique et pronostic. Immuno-analyse et biologie spécialisée. 2013, 28, pp. 30-35.
15. **BOULARAN, Anne-Marie. (2004).** Immunoglobulinopathies monoclonales. CHU MONTPELLIER LAPEYRONIE : s.n.
16. **BOUMENDJEL, Amel.** Cours de techniques immunologiques : Chapitre I - Les immunoglobulines. Laboratoire de Recherche en Biochimie et Microbiologie Appliquées. Unité d'immunologie. Département de biochimie. Faculté des Sciences. Université Badji Mokhtar d'Annaba, Algérie : s.n.
17. **Brian, G.M et Durie, MD. (2011).** Revue de la maladie et des options thérapeutiques Myélome Multiple Cancer de la moelle osseuse. International Myeloma Foundation 12650 Riverside Drive, Suite 206 North Hollywood, CA 91607-3421 Hotline (USA and Canada): (800) 452 CURE (2873): s.n.
18. **BRICON, T. (2002).** Identification et dosage des protéines urinaires au laboratoire d'analyses. Laboratoire de biochimie A et de neurobiologie, Hôpital Saint-Louis, AP-HP, 1, avenue Claude-Vellefaux, 75010 Paris : s.n., 2002. Vol. 60, 5.
19. **Briec Sautois, Franca Scerbo, Yves Beguin ,Pr Georges Fillet. (2000).** Traitement des myélomes réfractaires par la thalidomide. Rev Med Suisse. 2000, 2311.
20. **Broussolle, Christiane et Sève, Pascal. (2013).** Item 317 (ex item 166) – Myélome multiple des os. [éd.] copath Collège Français des Pathologistes. Université Médicale Virtuelle Francophone : s.n., 2013.
21. **Bruno B., Giaccone L., Rotta M., Anderson K. and Boccadoro M. (2005).** Novel targeted drugs for multiple myeloma: From bench to Bedside Leukemia. 10. 2005. p. 19. 1729-38.
22. **Cairolì, Anne et Duchosal, Michel André. (2013).** Myélome multiple: diagnostic et perspectives thérapeutiques. Service et Laboratoire Central d'Hématologie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne : s.n., 2013. pp. 746–751.
23. **CHAÏBI, et al. (2000).** Myélome et dysglobulinémie monoclonale. La Revue de Gériatrie. Avril 2000.
24. **CHAVANCE, Marine. (2013).** HEMOPATHIES MALIGNES A INVASION MEDULLO-SANGUINE CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT: ETAPES DU DIAGNOSTIC A TRAVERS UNE ETUDE RETROSPECTIVE DE 18 CAS. L'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I (Médecine - Pharmacie) : s.n., 2013.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

25. **CHEVAILLER, A et IFRAH, N. (2001)**. Spectre des affections s'accompagnant d'une immunoglobuline monoclonale. [en ligne] août 2001.
26. **Christiane Broussolle. (2010-2011)**. Item 126 : Immunoglobulines monoclonales. Université Médicale Virtuelle Francophone : s.n.
27. **Cofais, Marion; Duperray, Marianne; Bêlorgey, Chantal. (2015)**. Guides patients comprendre le myélome multiple. [éd.] L'Association française des malades du myélome multiple (AF3M) L'Institut national du cancer (INCa). octobre 2015.
28. **De Moreuil C, et al (2016)**. Myélome multiple et thrombose veineuse. Quelle thromboprophylaxie faut-il proposer ? Rev Med Interne (2016).
29. **Denis, Hudrisier ; Gene, Mayer. (2012)**. Immunologie – chapitre quatre immunoglobulines - structure et fonction. Emeritus Professor of Pathology, Microbiology and Immunology University of South Carolina: s.n., 2012.
30. **Donval, Lou. (2011)**. Immunoglobulines : structures et fonctions (recepteur B : BCR). 27 11 2011.
31. **EL MEZOUAR, IMANE. (2010)**. MYELOME MULTIPLE (A propos de 58 cas). Université sidi mohammed ben Abdallah faculté de médecine et de pharmacie Fès : s.n., 2010. 060/10.
32. **EMILE, CAROLE. (2015)**. Le myélome multiple : actualités biologiques. Pratique hématologie Option Bio. mercredi 16 septembre 2015, 531.
33. **Facon, T, Yakoub-Agha, I et Leleu, X. (2003)**. Myélome multiple. Paris : Encyclopédie Médico-chirurgicale (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS), 2003. p. 15 p. tous droits réservés.
34. **Hamza, Fatine Nabil Abdelraheem. (2012)**. L'apport du myélogramme dans le diagnostic des hémopathies À propos de 100 cas. Université cad i ayyad faculté de médecine et de pharmacie marrakech : s.n., 2012.
35. **Hauptmann, S et Tomasi, T. (1975)**. Mechanism of immunoglobulin a polymerization. 1975.
36. **International Myeloma Group. (2008)**. Conduite à tenir devant une gammopathie monoclonale de découverte fortuite. Carnets d'hématologie Biomnis 2008.
37. **Jacobson JL, Hussein MA, Barlogie B, et al. (2003)**. A new staging system for multiple myeloma patients based on the southwest Oncology Group (SWOG) experience. Br J Hematol. 2003, 112, pp. 441-450.
38. **Jahn, I, Diez, G et Goetz, J. (2008)**. Stratégie d'exploration fonctionnelle et de suivi thérapeutique. Apport de l'électrophorèse capillaire et du dosage des chaînes légères libres

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- dans l'exploration des immunoglobulines : le point de vue de l'immunologiste. Pôle de biologie, laboratoire d'immunologie, Nouvel Hôpital Civil de Strasbourg, 1, place de l'Hôpital, 67091 Strasbourg cedex, France67091 Strasbourg cedex, France : s.n., 2008. 23, pp. 231—239.
39. **Janvier, Maud. (2008).** Immunoglobuline monoclonale et myélome. Devenir et suivi des immunoglobulines monoclonales, nouveaux aspects diagnostiques et thérapeutiques du myélome. *Revue du Rhumatisme*. 2008, 75, pp. 358–361.
40. **Jean-Noel, Bastie. (1998).** Concours Medical Internat. *Hématologie*. 1998, pp. 76-78.
41. Jeong Eun Kim, Changhoon Yoo, Dae Ho Lee, Sang-We Kim, Jung-Shin Lee, Cheolwon Suh. 2010. Serum albumin level is a significant prognostic factor reflecting disease severity in symptomatic multiple myeloma. South Korea, University of Ulsan College of Medicine. *Annals of Hematology*. 2010.
42. **Kolopp, Sarda ; Marie, Nathalie. (2009).** Les immunoglobulines et leurs fonctions. Laboratoire d'Immunologie Centre de Biologie Lyon Sud : s.n., octobre 2009.
43. **Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Fonseca R, Rajkumar V, Offord JR, Larson DR, Plevak ME, Therneau TM, Greipp PR. (2003).** Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proceedings*. 2003, 78, pp. 21-33.
44. **Kyle, R.A. (1975).** Multiple myeloma: Review of 869 cases *Mayo Clin Proc*; 1975, Vol. 50, pp. 29-40.
45. **Laurence Lodé, Soraya Wuillème, Hervé Avet-Loiseau. (2005).** Facteurs pronostiques biologiques dans le myélome multiple. *Hématologie*. 2005, Vol. 11, 5.
46. **Leleu, Xavier ; Coiteux, Valérie ; Facon, Thierry. (2006).** Facteurs pronostiques et nouveaux traitements du myélome multiple. *La revue du praticien*. 2006.
47. **Mahdia, Saïdi. (2013).** *Hématologie : 2.000 Algériens atteints du cancer de la moelle osseuse*. mai 2013.
48. **Mandal, M. Ananya. (2014).** *Épidémiologie de Myélome Multiple*. 5 février 2014.
49. **Manier, S., & Leleu, X. (2011).** STRATÉGIES D'EXPLORATION FONCTIONNELLE ET DE SUIVI THÉRAPEUTIQUE Myélome multiple : diagnostic clinique et perspective de traitement. *Recommandations de l'International Myeloma Working Group (IMWG)*. (26), 125—136. Service des maladies du sang, hôpital Claude-Huriez, CHRU de Lille, 2, avenue Oscar-Lambret, 59037 Lille cedex, France.
50. **MENDASMENDAS.AF. (2010).** Myélome multiple maladie de kahler. Université Abou Bakr belkaid-faculté de médecine chu de Tlemcen-service de médecine interne: s.n ; 2010.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

51. **Moreuila, C, et al. (2016).** Myélome multiple et thrombose veineuse. Quelle thromboprophylaxie faut-il proposer ? 2016.
52. **MORLON, Lise. (2010).** Intérêt de l'immunophénotypage plasmocytaire dans le myélome multiple. Université Henri Poincaré - Nancy I faculté de pharmacie : s.n., 2010. Mémoire du diplôme d'études spécialisées de biologie médicale.
53. **Moumas, William Hanf, Estelle Desport, Julie Abraham, Sébastien Delbès , Céline Debiais , Laurence Lacotte-Thierry, Guy Touchard, Arnaud Jaccard, Jean-Paul Femand, Frank Bridoux. (2011).** Actualités dans le traitement du myélome avec insuffisance rénale. Néphrologie & thérapeutique. 2011.
54. **Ndomocrah, A, et al. (2013).** Aspects épidémiologiques-cliniques-radiologiques, thérapeutiques et évolutifs du myélome multiple à l'hôpital de l'amitié de Bangui. 2013.
55. **NGONE, Gùeye. (2001).** Myélome multiple aspects cliniques et évolutifs (A propos de 22 observations colligées à la Clinique Médicale 1 CHU Aristide Le Dantec). Université cheikh Anta Diop de Dakar faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie : s.n ; 2001. 39.
56. **PASQUALETTI, P, et al. (1991).** Classification and prognostic evaluation in multiple myeloma: a retrospective study of relationship survivals and responses to chemotherapy to immunological types, 20 single prognostic factors, 15 clinical staging systems, and 6 morphological classificati. Panminerva Medica. 1991, 33, pp. 94-111.
57. **PEGORIER. A. (2014).** COMMISSION DE LA TRANSPARENCE Avis 22 janvier 2014. Laboratoire JANSSEN-CILAG : s.n ; 2014.
58. **POTTIER, Valérie. (2014).** Étude du myélome multiple au travers de l'imagerie médicale. Université de Bordeaux U.F.R. des sciences pharmaceutiques : s.n., 2014. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie.
59. **POULAIN, S, et al. (2011).** Protéasome et inhibiteurs du protéasome. 2011.
60. **RAISONNIER, A. (2002-2003).** structures fonctions objectifs au cours de révisions biochimie PCEM2 révisions Biochimie métabolique. Université Pierre et Marie Curie : s.n., 2002-2003.
61. **REBAHI, HOUSSAM. (2009).** Profils épidémiologique, clinique et évolutif des myélomes multiples pris en charge par le service d'hématologie. Université Cadi Ayyad, Faculté De Médecine Et De Pharmacie, Marrakech
62. **RIVIER, Denis. (2012).** Chaînes légères libres d'immunoglobulines et gammopathies Utilité du dosage dans le sérum. 2012, Vol. (29-30), 12, pp. 585-592.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

63. **Roitt, Ivan, Brostoff, Jonathan et Male, David. (1986).** Immunologie fondamentale et appliquée. Paris : MEDSI médecine et science internationale, mars 1986.
64. **Roos, De, coll et Rusiecki. (2005).** Myélome multiple.
65. Roux, Sophie. 2001. Actualites du myelome with international myeloma workshop. Service de Rhumatologie, Hôpital Bicêtre, Banff, Alberta, Canada : s.n., 4-8 Mai 2001.
66. **SADOUKE, K. (2009).** Les immunoglobulinopathies monoclonales : Etude épidémiologique, biochimique et étiologique d'une cohorte de 214 cas. Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat.
67. **Sautois, Briec, et al. (2000).** Traitement des myélomes réfractaires par la thalidomide. Rev Med Suisse. 2000, 2311.
68. **SEBIA. (2014).** CAPILLARYS IMMUNOTYPING Ref. 2100.
69. **Shustik, Chaim. (2005).** Complications du myélome multiple. Université McGill Division d'hématologie, Hôpital Royal Victoria : s.n ; 2005.
70. **Sirohi B, Powles R, Kulkarni S, et al. (2001).** Comparison of new patients with Bence-Jones, Ig G and Ig A myeloma receiving sequential therapy: the need these immunologic subtypes as separate disease entities with specific prognostic criteria. Bone Marrow Transplant. 2001, 28, pp. 29-37.
71. **Sophie Barillé-Nion, Régis Bataille. (2003).** Mécanismes de l'ostéolyse du myélome mutiple : nouvelles perspectives thérapeutiques. Hématologie. mai-juin 2003, Vol. 9, 3.
72. **Swerdlow, Campo, Harris, Jaffe , Pileri , Stein , Thiele , Vardiman. (2008).** WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC: s.n., 2008.
73. **TOUAOUSSA, Aziz. (2015).** Aspect clinicobiologique et évolutif du myélome multiple Une étude au service de laboratoire d'hématologie. Royaume du Maroc université Sidi-Mohammed Ben Abdallah faculté de médecine et de pharmacie de FES : s.n., 2015.
74. **Tricart, Sebastien. (2010).** Item 166 : Myélome multiple des os. Item166. Université médicale virtuelle francophone : s.n., 2010.
75. **weill, B. (2013).** Chapitre 13 : diagnostic d'une immunoglobuline monoclonale. file:///C:/Users/user/Desktop/myelomee/myel/Chapitre%2013.html. [En ligne] 2013.
76. **Zandecki, Marc. (2006).** Myélome multiple (maladie de Kahler) (et gammopathies monoclonales idiopathiques). Hématologie biologique. Faculté de Médecine – CHU 49000 Angers France : s.n., decembre 2006.
77. **ZARNITSKY, Charles. (2015).** Myélome Multiple 2015 Actualités diagnostiques et thérapeutiques. Service de rhumatologie : s.n., 2015.

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXE 1 : Principaux pièges de l'électrophorèse

Des protéines sériques

Les principaux pièges de l'électrophorèse sont :

- la présence de fibrinogène qui se traduit par la présence d'un pic à l'électrophorèse, fin de migration β ou γ très rapide ;
- l'augmentation des α_2 - ou des β -globulines (transferrine, composant C3 du complément, β -lipoprotéines, hémolyse importante) ;
- pic masqué dans les β -globulines (petite IgA monoclonale) ;
- absence de pic en cas d'IgM à activité cryoprécipitante pour non respect des conditions de prélèvement ;
- existence de formes diversement polymérisées d'une IgM, responsable de plusieurs pics ;
- complexation de l'IgM à d'autres protéines, lui faisant perdre son homogénéité de charge : α_1 antitrypsine pour les chaînes légères, facteurs rhumatoïdes monoclonaux.

Des protéines urinaires

Les pièges de l'EPP urinaire concernent surtout la zone des β -globulines :

-Présence de sang dans les urines ; hémoglobinurie ou myoglobinurie importante pouvant simuler un pic de PBJ dans la zone des β -globulines.

-Des chaînes légères libres polyclonales kappa et lambda peuvent apparaître dans des atteintes tubulaires mais, dans ce cas, elles sont de 2 types, et en concentration peu importante. La zone des gammaglobulines est diffuse sur l'électrophorèse urinaire (absence de pic homogène comme dans une PBJ)

ANNEXES

Annexe 2 : Électrophorèse capillaire des protéines sériques

L'électrophorèse capillaire est une microtechnique destinée à l'analyse qualitative et quantitative de solutions complexes, à partir d'échantillons de très faible volume. Elle permet notamment une séparation rapide de molécules organiques de masse moléculaire et de structure très variées telles que les sucres, les lipides, les peptides et les protéines.

II – Caractéristiques analytiques et intégration dans le laboratoire

Le CapillarysR est un analyseur dont le principe est l'électrophorèse capillaire de zone en veine liquide. Réalisée dans un tampon de pH = 9.9, sous un voltage élevé de 7000 volts, la migration est contrôlée par effet Peltier à 35,5 °C, ce qui évite les problèmes éventuels liés à certaines cryoglobulines susceptibles de précipiter à température ambiante.

La migration s'effectue en parallèle dans huit capillaires de silice fondue (diamètre : 25 µm, longueur : 18 cm) protégés par une gaine en aluminium. Le système optique est constitué d'une lampe au deutérium, la cellule de détection comporte un filtre UV à 200 nm (longueur d'onde d'absorption des liaisons peptidiques).

L'alimentation des échantillons se fait en continu, avec identification des tubes primaires par un code à barre intégré. Le pilotage de l'automate s'effectue grâce à un logiciel multitâche sous Windows.

La cadence de l'automate est de 80 tests/heure, le tracé apparaissant sur l'écran une dizaine de minutes après l'introduction de l'échantillon.

TECHNIQUE

Le système CAPILLARYS 2 est un instrument multiparamétrique automatique qui assure l'analyse des protéines sériques selon les étapes suivantes :

- lecture des codes-barres des tubes primaires (jusqu'à 8) et du portoir ;
- dilution des échantillons à partir des tubes primaires ;
- lavage des capillaires ;
- injection des échantillons dilués ;
- séparation et détection directe des protéines sur les capillaires.

Les étapes manuelles sont les suivantes :

- mise en place des tubes primaires dans les portoirs ;
- introduction dans le système CAPILLARYS 2 ;
- récupération des portoirs après analyse.

ANNEXES

II. TRAITEMENT DES DONNÉES

Dès la fin de l'analyse, la quantification relative des fractions est automatiquement effectuée et les profils peuvent être analysés. À partir de la concentration totale en protéines de l'échantillon (Taux de protides introduit manuellement), il est alors possible de calculer les concentrations de chaque fraction.

Les profils électrophorétiques sont analysés visuellement pour détecter les anomalies.

Les profils sont présentés par défaut en mode redessiné : ce mode rapproche la fraction alpha-1 du pic d'albumine.

En option, le mode standard permet d'afficher la courbe initiale ou courbe brute.

Annexe 3 : Immunotypage par immunosoustraction

Dans les techniques CAPILLARYS IMMUNOTYPING et CAPILLARYS IMMUNOTYPING URINE, l'immunotypage est effectué à l'aide d'antisérums monospécifiques et permet l'identification de ces pics monoclonaux dépistés par électrophorèse.

Le système CAPILLARYS comprend 8 capillaires en parallèle. Sur ce système, l'échantillon à analyser est injecté, par aspiration à l'anode, simultanément dans six capillaires. Pour l'immunotypage, le profil protéique de référence (profil ELP) est obtenu par injection de l'échantillon en présence de la solution ELP dans le capillaire N° 1. Les profils antisérums sont obtenus par injection du même échantillon en présence des antisérums de différentes spécificités anti-Ig G, anti-Ig A, anti-Ig M, anti-Kappa et anti-Lambda, dans les cinq autres capillaires (N° 2 à 6).

La séparation est ensuite réalisée en appliquant une différence de potentiel de plusieurs milliers de volts aux bornes de chaque capillaire et la détection directe des protéines est effectuée à 200 nm côté cathode. Les capillaires sont lavés entre chaque analyse par une solution de lavage, puis par le tampon d'analyse.

La superposition d'un des profils antisérum avec le profil ELP permet de visualiser la disparition et / ou la diminution d'un pic monoclonal sur le profil antisérum et d'en déduire une gammopathie.

REMARQUE : Avec le tampon utilisé à pH basique, l'ordre de migration des protéines est le suivant, de la cathode à l'anode :

Gamma globulines, bêta-2 globulines, bêta-1 globulines, alpha-2 globulines, alpha-1 globulines et albumine. Chaque fraction contient un ou plusieurs constituants.

ANNEXES

Les complexes immunoglobulines de l'échantillon (sérum) - immunoglobulines de l'antisérum spécifique apparaît en position très anodique (zone inter alpha-1/albumine ou plus anodique que l'albumine).

L'immunotypage se réalise en quatre étapes :

1. Dilution du sérum dans un diluant spécifique contenu dans le double puits de la barrette antisérums. La dilution est adaptée à la concentration en immunoglobulines de l'échantillon.
2. Mélange de l'échantillon dilué avec les différents antisérums. Le complexe antigène - anticorps se forme rapidement en milieu liquide sans étape d'incubation, ni de sédimentation.
3. Injection des échantillons traités par aspiration dans 6 capillaires (côté anodique) puis séparation électrophorétique des protéines en milieu alcalin par application d'une différence de potentiel de plusieurs milliers de volts aux bornes des capillaires. La détection directe des protéines est effectuée à 200 nm (côté cathodique).
4. Superposition du profil ELP et des profils antisérums (Ig G, Ig A, Ig M, Kappa et Lambda) permettant la caractérisation de la protéine monoclonale.

L'analyse des sérums peut être réalisée avec la version 5.50 du logiciel PHORESIS et les versions suivantes.

I. PRÉPARATION DE L'ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE

1. Sélectionner les échantillons dont le profil protéique obtenu par la technique CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 a permis de détecter un pic anormal après analyse qualitative.
2. Mettre CAPILLARYS et l'ordinateur de contrôle sous tension.
3. Démarrer le logiciel, l'automate est alors automatiquement initialisé. Après 10 minutes environ, le système CAPILLARYS est prêt pour l'utilisation.
4. Pour chaque échantillon, sélectionner le mode de dilution à appliquer automatiquement selon sa concentration en immunoglobulines :

- " HYPERGAMMA " si la concentration en immunoglobulines est supérieure à 20 g/L (cas d'hypergammaglobulinémie),
- " HYPOGAMMA " si la concentration en immunoglobulines est inférieure à 8 g/L (cas d'hypogammaglobulinémie),
- " STANDARD " dans tous les autres cas (mode de dilution sélectionné par défaut).

ANNEXES

5. Pour l'analyse des sérums, utiliser le kit CAPILLARYS IMMUNOTYPING en sélectionnant le programme d'analyses "IMMUNOTYPING 6" et en mettant en place le tampon d'analyse CAPILLARYS PROTEIN(E) 6.

6. Placer un seul tube primaire en position 1 sur chaque portoir, en prenant bien soin de placer le code-barres du tube en face de la fenêtre de lecture. Dans le cas où l'échantillon placé sur le portoir ne ferait pas partie des sérums préalablement sélectionnés (si la concentration en immunoglobulines sont comprises entre (8 et 20 g/L), le mode de dilution " STANDARD " sera appliqué.

7. Pour chaque échantillon à analyser, prendre une barrette antisérums neuve, enlever son opercule et la placer sur le même portoir que le tube primaire (en cas d'absence de barrette, le portoir est éjecté).

Puis effectuer les mêmes étapes manuelles qu'on a réalisées pour la technique de séparation.

II. TRAITEMENT DES DONNÉES

Dès la fin de l'analyse, chaque profil antisérums (Ig G, Ig A, Ig M, Kappa et Lambda) est superposé au profil ELP. En cas de réaction entre la protéine monoclonale et l'antisérum spécifique, le pic correspondant disparaît du profil électrophorétique de l'antisérum.

L'analyse du sérum dilué dans le diluant contenu dans la barrette antisérums, est réalisée lors de l'immunotypage et permet d'obtenir le profil protéique de l'échantillon natif (profil « Ref »). Cette courbe supplémentaire permet de vérifier la concordance entre l'analyse des protéines et l'immunotypage. Ces comparaisons permettent d'identifier et de caractériser le ou les composants monoclonaux.

IMPORTANT : Le profil protéique natif (profil « Ref ») n'est ni superposé, ni superposable à un profil antisérums de l'immunotypage.

ANNEXES

Annexe 4 : Fiche d'exploitation

Nom	Age	Sexe	Service	TP (g/L)	ALB (g/L)	MIGRATION DU CM	IT	CONCENTRATION CM (g/L)
patient 1								
patient 2								
patient 3								
patient 4								
patient 5								
patient 6								
patient 7								
patient 8								
patient 9								
patient 10								
patient 11								
patient 12								
patient 13								
patient 14								
patient 15								
patient 16								
patient 17								
patient 18								
patient 19								
patient 20								
patient 21								
patient 22								
patient 23								
patient 24								
patient 25								
patient 26								
patient 27								
patient 28								
patient 29								
patient 30								
patient 31								

ANNEXES

Nom	HYPOGAMMA	VS (mm)	UREE (g/L)	CREAT (mg/L)	CALCEMIE (mg/L)	HB (g/dL)	PLASMOCYTOSE (%)
patient 1							
patient 2							
patient 3							
patient 4							
patient 5							
patient 6							
patient 7							
patient 8							
patient 9							
patient 10							
patient 11							
patient 12							
patient 13							
patient 14							
patient 15							
patient 16							
patient 17							
patient 18							
patient 19							
patient 20							
patient 21							
patient 22							
patient 23							
patient 24							
patient 25							
patient 26							
patient 27							
patient 28							
patient 29							
patient 30							
Patient 31							

RESUME

RESUME

Le myélome multiple est une affection caractérisée par une prolifération plasmocytaire maligne atteignant principalement la moelle osseuse. Cette maladie atteint le plus souvent le sujet âgé, et les manifestations osseuses (douleurs, fractures pathologiques) dominent fréquemment le tableau clinique. Elle représente 10% des hémopathies malignes et 1 à 2% de l'ensemble des cancers et constitue la deuxième classe après le MM à IgG en termes de fréquence. Le MM à IgA se manifeste par la sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale entière d'isotype IgA, quantifiée par électrophorèse des protéines sériques et identifiée par Immunotypage par immunosoustraction du sérum; associées à la quantification des chaînes légères sériques et de leur ratio. Puis il faut évaluer la plasmocytose médullaire sur myélogramme.

L'objectif principal de notre étude est de définir un profil biologique en rapportant les résultats d'explorations immunologiques, biochimiques sériques et hématologiques d'une population de patients atteints de myélome multiple à IgA au sein du laboratoire de biochimie du CHU de TIZI OUZOU. Sur le plan épidémiologique, le pic de fréquence d'âge est observé entre 60-69 avec prédominance masculine. Sur le plan biologique, 88.26% des patients présentaient une anémie et 29.03% présentaient une hyperprotidémie. L'incidence de l'hypercalcémie était de 35.48%, celle de l'atteinte rénale est de 41.93% et le pourcentage moyen d'infiltration de la moelle osseuse était de 39.31%. L'électrophorèse des protides a mis en évidence le plus souvent un pic correspondant à une IgA monoclonal dans la zone des β . Une hypogammaglobulinémie a été également notée chez 90.32% des patients, reflétant la prolifération excessive du plasmocyte malin au détriment des plasmocytes normaux.

Les facteurs retenus pour le myélome à IgA étaient la migration préférentielle du composant monoclonale au niveau des β globulines, la calcémie, la prédominance de la chaîne légère de type λ et le taux du composant monoclonal.

Summary

Multiple myeloma IgA is an affection characterized by a malignant proliferation of plasma cells mainly reaching the bone marrow. This disease affects mostly the elderly, and bone manifestations (pain, pathological fractures) often dominate the clinical picture. It represents 10% of hematologic malignancies and 1 to 2% of all cancers and is the second class after the MM IgG in terms of frequency.

Immunologically, it manifests firstly by the secretion of a whole monoclonal Ig of IgA isotype quantified by electrophoresis of serum and identified by Immunotyping. Then you have to assess the spinal cord plasma cells on bone marrow examination.

The main purpose of our study is to define a biological profile reporting the results of immunological, biochemical and hematological explorations of serum for a population of patients with multiple myeloma with IgA in the biochemistry laboratory of the University Hospital of Tizi OUZOU. Epidemiologically, the peak age of incidence is observed between 60-69 with predominantly male. Biologically, 88.26% of patients had anemia and 29.03% had hyperprotidémie. The incidence of hypercalcemia was 35.48%, that of renal disease is 41.93% and the average percentage of infiltration of the bone marrow was 39.31%. The protein electrophoresis showed usually a peak corresponding to a monoclonal IgA in the β area. Hypogammaglobulinemia was also observed in 90.32% of patients, reflecting the excessive proliferation of malignant plasma cell at the expense of normal plasma cells.

The factors used for myeloma IgA were the preferential migration of monoclonal component level β globulin, hypercalcemia, hyperprotidémie; the predominance of the light chain type λ and the monoclonal component level