

Item 126 : Immunoglobulines monoclonales

**Association des Collèges des Enseignants d'Immunologie
des Universités de Langue française**

Date de création du document 2010-2011

Table des matières

OBJECTIFS	5
Préambule.....	5
I Introduction	8
II Diagnostic biologique	8
II.1 Anomalies biologiques évocatrices.....	9
II.2 Les prélèvements	9
II.2.1 Le sérum.....	10
II.2.2 Les urines	11
II.2.3 Le Liquide Céphalo-Rachidien (LCR)	11
II.2.4 Autres liquides	11
II.2.5 L'acheminement, les conditions de transport et de conservation	12
II.3 Étude de la charge : l'électrophorèse	12
II.3.1 L'électrophorèse des protéines sériques	12
II.3.1.1 Résultats	12
II.3.1.2 Principaux pièges	13
II.3.2 L'électrophorèse des protéines urinaires.....	14
II.4 Caractérisation isotypique.....	14
II.4.1 L'immunoélectrophorèse	14
II.4.1.1 Principe	14
II.4.1.2 Immunoélectrophorèse du sérum.....	15
II.4.1.3 Immunoélectrophorèse des urines.....	17
II.4.2 L'immunofixation.....	17
II.4.3 L'immuno-empreinte sur nitrocellulose	18
III Formes biologiques	18
III.1 Protéine de Bence Jones.....	18
III.2 Les myélomes à IgD ou à IgE	19
III.3 Maladies des chaînes lourdes	19

III.4	Myélome non excréant.....	20
III.5	Gammopathies biclonales.....	20
III.6	Traces oligoclonaux.....	21
IV	Complications.....	21
IV.1	Complications liées à l'immunoglobuline monoclonale.....	21
IV.1.1	Cryoglobulines.....	21
IV.1.1.1	Définition.....	21
IV.1.1.2	Modalités pratiques de prélèvement.....	22
IV.1.2	Immunoglobulines monoclonales à activité anticorps identifiée.....	23
IV.1.3	Hyperviscosité.....	23
IV.1.4	Troubles de l'hémostase.....	24
IV.1.5	Dépôts tissulaires d'Ig monoclonales.....	24
IV.1.5.1	Néphropathie tubulaire du myélome.....	24
IV.1.5.2	Le syndrome de Fanconi.....	25
IV.1.5.3	L'amylose.....	25
IV.1.5.4	La maladie de dépôt de chaînes légères ou d'Ig monoclonale.....	26
IV.1.5.5	L'insuffisance rénale.....	26
IV.2	Complications liées au déficit immunitaire.....	26
IV.2.1	Le dosage des immunoglobulines.....	26
IV.2.2	Les infections.....	27
IV.3	Complications liées à la prolifération tumorale.....	27
IV.3.1	L'hypercalcémie.....	27
IV.3.2	Les complications neurologiques.....	28
IV.3.2.1	Les compressions médullaires.....	28
IV.3.2.2	le POEMS syndrome.....	28
IV.3.3	Les complications osseuses.....	28
V	Formes cliniques.....	28
V.1	Immunoglobuline monoclonale de signification indéterminée.....	29

V.2	Myélome multiple	30
V.2.1	Introduction	30
V.2.2	Physiopathologie	31
V.2.2.1	Prolifération plasmocytaire	31
V.2.3	Diagnostic	33
V.2.3.1	Circonstances de découverte	33
V.2.3.2	Manifestations cliniques	33
V.2.3.3	Autres manifestations cliniques	34
V.2.4	Formes cliniques	35
V.2.4.1	Les myélomes non excrétants	35
V.2.4.2	Les plasmocytomes solitaires	36
V.2.4.3	La leucémie à plasmocytes	36
V.2.5	Évolution et pronostic	36
V.3	Traitement	37
V.3.1	Principes	37
V.3.2	Moyens	37
V.4	Maladie de Waldenström	38
VI	Bibliographie	39
VII	Annexes	39
	Bibliographie	39

OBJECTIFS

ENC :

- Diagnostiquer une immunoglobuline monoclonale.

PREAMBULE

En préambule nous rappellerons les objectifs pédagogiques qui ont été définis pour cet item qui fait partie d'un chapitre plus vaste intitulé « syndromes immunoprolifératifs ». Les parties plus spécifiquement cliniques seront développées dans le module *Hématologie*.

Objectifs pédagogiques en immunologie

La réalisation de ces objectifs suppose que les bases fondamentales indispensables de l'immunologie aient été acquises au cours du premier cycle des études médicales. La codification A, B, C correspond aux critères de savoir et de savoir-faire développés par l'Université de Sherbrooke.

- Objectif de rang A : ce sont les objectifs de savoir-faire dont la méconnaissance engage le pronostic vital du patient ou lui est gravement préjudiciable.
- Objectif de rang B : ce sont les objectifs de savoir-faire n'engageant pas immédiatement le pronostic vital mais dont les situations sont fréquemment rencontrées en pratique médicale.
- Objectif de rang C :
 - C1 : objectifs de savoir : connaissances requises pour mieux appréhender les mécanismes physiopathologiques et mieux comprendre les démarches thérapeutiques innovantes.
 - C2 : objectifs de savoir-faire n'engageant pas le pronostic vital et dont les situations sont rarement rencontrées en pratique médicale.

Syndromes immunoprolifératifs

Contexte et Objectifs de l'ASSIM

- *Prévalence* : Les syndromes immunoprolifératifs correspondent à des maladies fréquentes, avec une incidence de 15/100000 pour l'ensemble des leucémies. La leucémie lymphoïde chronique est la plus fréquente des hémopathies malignes et représente environ 30% de ces pathologies. L'incidence du myélome est de 3/100000.
- *Urgence* : Le taux élevé de mortalité justifie une prise en charge rapide des leucémies aiguës et de certains lymphomes.
- *Intervention* : L'approche immunologique est essentielle pour la compréhension de ces maladies et des grands concepts physiopathologiques qui les régissent. Leur diagnostic tant au niveau des cellules que des molécules (immunoglobulines monoclonales), leur évaluation pronostique et donc les décisions thérapeutiques (les traitements des leucémies aiguës T et B ne sont pas les mêmes...) dépendent d'une définition appropriée. Par ailleurs, on assiste à une émergence de stratégies thérapeutiques d'ordre immunologique (vaccination anti-idiotypique, anticorps anti-cytokines...).
- *Gravité* : Tous ces syndromes sont des maladies graves, présentant, malgré les protocoles thérapeutiques lourds préconisés, des taux de mortalité qui restent élevés.
- *Exemple éducatif* : Ce sont dans certains cas de vrais modèles de pathologies transversales. Par exemple, le vaste domaine des maladies directement liées à des particularités d'immunoglobulines monoclonales inclut des maladies systémiques ou cliniquement spécifiques d'organes divers, souvent révélatrices, souvent graves, qu'il y ait ou non une maladie maligne sous-jacente. Ces affections débordent donc très largement le domaine de l'hémo-oncologie, pour entrer dans ceux de la médecine interne, la néphrologie, de la neurologie, etc.

1. Objectifs généraux

- Comprendre la notion de clonalité (C1).
- À partir de la notion de clonalité, savoir distinguer les pathologies bénignes et malignes (B).
- Implications diagnostiques et thérapeutiques de la connaissance des étapes immunologiques de la lymphopoïèse (C1).
- Connaître les grands principes de base de la leucémogénèse (anomalies génétiques, virus) (C1).

- Connaître la complémentarité des explorations immunophénotypiques, cytologiques et génétiques dans le diagnostic des hémopathies lymphoïdes à petites cellules, des leucémies aiguës et des lymphomes (C1).
- Savoir reconnaître et explorer une lymphocytose dans un liquide (exemple le sang) et un infiltrat lymphocytaire tissulaire (exemple : peau, ganglion) (A).
- Connaître les anomalies immunologiques associées à des adénopathies ou à une splénomégalie (B).

2. Objectifs spécifiques

- *Immunoglobulines monoclonales (IgMo)*
 - Savoir explorer et suivre un patient présentant une IgMo (B).
 - Connaître les éléments permettant de différencier une IgMo maligne d'une IgMo bénigne (A).
 - Conduite à tenir pour l'exploration et la prise en charge d'un patient présentant une cryoglobuline (B).
 - Savoir prescrire les examens et prélèvements nécessaires au diagnostic d'amylose (B).
- *Myélome*
 - Connaître les signes cliniques évocateurs d'un myélome (B).
 - Connaître les complications conduisant à la prise en charge en urgence d'un patient présentant un myélome (A).
 - Connaître les éléments cliniques et d'explorations complémentaires utiles à la surveillance d'un patient porteur de myélome (B).
- *Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC)*
 - Savoir prescrire les examens permettant d'identifier une LLC ou une maladie de Waldenström chez un patient présentant une lymphocytose (B).
 - Connaître l'importance de l'immunophénotypage pour le diagnostic des LLC (B).
 - Conduite à tenir devant une fièvre ou une anémie chez un patient présentant une LLC (B).
- *Leucémies Aiguës (LA) / Lymphomes*

- Savoir différencier les caractéristiques cliniques des adénopathies bénignes ou malignes (A).
- Connaître les indications et conditions de réalisation d'une biopsie ganglionnaire et de conditionnement des prélèvements (B).
- Connaître l'importance de l'immunophénotypage dans le diagnostic, la prise en charge thérapeutique et le pronostic des LA et lymphomes (C1).
- Connaître les éléments cliniques et d'explorations complémentaires utiles à la surveillance d'un patient porteur de leucémie ou de lymphome (B).
- Savoir informer et accompagner la famille d'un patient présentant une LA ou un lymphome (B).

I INTRODUCTION

Une immunoglobuline (Ig) monoclonale se caractérise par l'augmentation sélective d'une seule espèce moléculaire d'immunoglobuline sérique, causée par la prolifération d'un clone unique de lymphocytes B. 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. Sa présence n'est nullement synonyme de malignité. Sa recherche et sa caractérisation dans les liquides biologiques visent à affirmer son homogénéité :

- de charge par électrophorèse,
- d'isotypie (type de chaîne légère, classe, voire sous-classe de chaîne lourde) par immuno-électrophorèse, immunofixation ou immuno-empreintes.

Elles sont retrouvées dans certains des syndromes immunoprolifératifs, les néoplasies plasmocytaires avec au premier rang le myélome multiple, ou maladie de Kahler, et les pathologies qui lui sont reliées, la macroglobulinémie de Waldenström, les maladies des chaînes lourdes et l'amylose, enfin les gammopathies monoclonales de signification indéterminée.

II DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Avant d'envisager le diagnostic biologique proprement dit, nous passerons en revue les différentes anomalies biologiques évocatrices de la présence d'une Ig monoclonale, puis les différents types de prélèvements et leur mode d'acheminement.

II.1 ANOMALIES BIOLOGIQUES EVOCATRICES

En dehors des circonstances cliniques évocatrices (altération de l'état général, douleurs osseuses, compression médullaire lente...), certaines anomalies biologiques d'examens usuels peuvent faire suspecter la présence d'une immunoglobuline monoclonale.

- VS > 80 mm à la première heure.

Rappelons cependant que trois formes de myélome ne s'accompagnent pas (sauf anémie) d'accélération de la vitesse de sédimentation en raison de l'absence, réelle ou artéfactuelle, de composant monoclonal dans le sérum. Par ordre de fréquence ce sont :

- myélome à chaînes légères où le composant monoclonal en faible abondance est en général uniquement détectable dans les urines.
- les immunoglobulines monoclonales à activité cryoprécipitante, quand les mauvaises conditions de prélèvement conduisent à la prise de la cryoglobuline dans le caillot lors de l'exsudation du sérum.
- myélome non excrétant :
 - hématies en rouleaux, anémie inexpliquée,
 - hypercalcémie,
 - hyperprotidémie,
 - hyperviscosité,
 - anomalies de l'électrophorèse des protéines (cf infra). La nomenclature permet au biologiste de pratiquer une immunoélectrophorèse et/ou une immunofixation à sa propre initiative si l'électrophorèse est évocatrice. Il en va de même pour la réalisation d'une électrophorèse au vu de dosages perturbés d'immunoglobulines,
 - découverte fortuite d'une cryoglobuline dans un prélèvement conservé à +4°C,
 - bande étroite à l'électrophorèse des urines,
 - (auto)-anticorps de titre très élevé : la règle est de faire au moins une électrophorèse sur un sérum contenant un tel (auto)-anticorps.

II.2 LES PRELEVEMENTS

La nature des tubes requis pour les analyses immunologiques varie selon le type d'exploration envisagée.

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.

Ceci est vrai, entre autre, pour l'analyse qualitative des immunoglobulines (immunoélectrophorèse, immunofixation) et leur analyse quantitative (dosage néphélométrique).

Quelques particularités sont cependant à connaître.

II.2.1 Le sérum

Bien que le plasma soit le liquide extracellulaire physiologique, en immunologie, le sérum reste l'échantillon de référence. Un piège classique est la présence de fibrinogène en cas de traitement anticoagulant important ou d'erreur de prélèvement, beaucoup plus banale. Il en résulte un pic en b à l'électrophorèse, bien évidemment non typable par la batterie d'anti-sérums spécifiques des chaînes d'immunoglobulines en immunoélectrophorèse. Le sang total est recueilli sur tube sec, sans anticoagulant, souvent sur gel séparateur. Le volume de sang à prélever est un sujet d'interrogation fréquent. Un tube de 7 ml correctement rempli est suffisant pour le dosage de tous les isotypes d'immunoglobulines et la recherche d'immunoglobulines monoclonales. Si le dosage de l'IgD est prescrit, il est conseillé de placer des inhibiteurs enzymatiques dans le tube de recueil, en raison de la susceptibilité théorique de cet isotype à la protéolyse. (notons que le dosage de l'IgD a surtout un intérêt dans des circonstances qui n'ont rien à voir avec le myélome (syndrome d'hyper IgD ou HIDS). En cas de pic de classe IgD, celui-ci est mieux quantifié par la simple électrophorèse. Pour la recherche de cryoglobuline, il est préférable de partir d'au moins deux tubes de 7 ml. Pour les enfants, il est impératif de rappeler que, compte tenu de l'ontogénie et du délai d'apparition des différents isotypes d'immunoglobulines, il est quasiment inutile de prescrire une analyse immunoélectrophorétique du sérum, ceci pour deux raisons : les anomalies qualitatives détectées par ce genre d'examen sont exceptionnelles chez l'enfant, sauf en cas de déficit immunitaire, qui doit être évoqué en cas de découverte fortuite d'une Ig monoclonale, d'une part, et d'autre part cet examen est toujours effectué en comparaison avec un sérum humain normal d'adulte. Mieux vaut donc chez l'enfant demander un dosage pondéral des immunoglobulines qui sera interprété en fonction de normes d'enfants du même âge. De même, le dosage des sous-classes d'IgG, réalisé au mieux par des méthodes Elisa dans des laboratoires experts bien au fait de la spécificité des anticorps monoclonaux utilisés, n'est réalisable que lorsque le taux global des IgG a atteint un seuil significatif vers l'âge de 1 à 2 ans. Toute prescription chez un nourrisson d'un âge inférieur doit être refusée, car ininterprétable, notamment pour les sous-classes IgG2 et IgG4. La deuxième condition préalable pour cette analyse concerne le délai d'acheminement, qui doit être le plus court possible compte tenu de l'instabilité de certains isotypes (IgG3).

II.2.2 Les urines

Lors de toute suspicion de gammopathie monoclonale il est impératif de coupler l'analyse immunoélectrophorétique des urines à celle du sérum. Seule cette analyse conjointe permet d'identifier avec certitude la présence d'une protéine de Bence Jones (chaîne légère libre monoclonale de même type que l'immunoglobuline monoclonale sérique, qu'elle soit complète ou uniquement composée de chaîne légère), qui peut n'être détectable que dans les urines.

La recherche d'une protéinurie, surtout avec la technique des bandelettes, n'est pas un moyen valable de dépistage d'une anomalie monoclonale des Ig (PBJ). La quantité de protéines due à une PBJ est souvent modérée, mais surtout le principe de la mise en évidence des protéines dans les urines par les bandelettes (mesure du pouvoir tampon des protéines) est pris en défaut par certaines PBJ.

Les urines de 24 heures, exemptes de sang, sont recueillies sur antiseptique., conservées à froid pendant le recueil et transportées dans la glace au laboratoire. Le non-respect de ces conditions crée un risque majeur de protéolyse qui peut rendre l'étude ininterprétable. L'échantillon, destiné à l'analyse immunoélectrophorétique, doit être représentatif de la diurèse des 24 heures, car l'excrétion des chaînes légères varie au cours du nyctémère. Cet échantillon nécessite d'être concentré (à +4°C si la concentration dure longtemps), soit par dialyse contre une solution hypertonique, soit par concentration sur une membrane sélectionnant la masse moléculaire des analytes (avec un risque de la fuite des protéines de bas poids moléculaires ou l'adsorption de certaines protéines, et en particulier des PBJ, sur certaines membranes). En cas de protéinurie non-mesurable, il faut concentrer environ 1000 fois les urines. La nomenclature des actes médicaux indique de ne pas effectuer l'étude dans ce cas, ce qui est un non-sens, en raison notamment du fait que la découverte d'une PBJ, y compris au sein d'une protéinurie nulle, est fortement indicative de prolifération maligne.

II.2.3 Le Liquide Céphalo-Rachidien (LCR)

Le liquide céphalo-rachidien peut être le substrat de l'exploration des immunoglobulines dans le diagnostic des méningites ou de certaines maladies auto-immunes comme la sclérose en plaques. Quelques centaines de microlitres sont alors suffisants, prélevés sur un flacon isolé lors de la ponction lombaire.

II.2.4 Autres liquides

On peut être amené beaucoup plus rarement à travailler sur des liquides d'épanchement ou de sécrétion, moyennant des précautions qui sont rappelées dans la référence.

II.2.5 L'acheminement, les conditions de transport et de conservation

Pour l'analyse qualitative et les dosages des immunoglobulines, à l'exception des cryoglobulines, des dosages des IgD et des IgG3, le prélèvement, s'il est effectué en dehors du laboratoire, peut être acheminé par des circuits habituels. Après centrifugation à 1200-1500 g, le sérum est décanté et conservé dans autant de tubes secondaires que d'analyse, correctement identifiés, au besoin en présence d'azoture de sodium pour quelques jours à +4° C, sinon à -20° C. La recherche de cryoglobuline, tout comme le dosage du complément et les explorations cellulaires, est le type de prélèvement qui doit court-circuiter un système commun de ramassage, et d'enregistrement s'il existe un centre de tri commun, et être apporté le plus rapidement possible au laboratoire d'Immunologie. Les cryoglobulines sont un groupe particulier d'Ig ayant la propriété de précipiter à basse température. Le cryoprécipité ainsi formé est réversible en ramenant la température de l'échantillon de sérum à 37° C. Leur caractérisation impose donc de ne pas rompre la « chaîne du chaud » en gardant la température constante à 37° C pendant toutes les opérations qui vont du recueil du sang sur tube sec jusqu'à l'obtention du sérum. Après prélèvement les tubes doivent donc être maintenus à 37° C (enveloppés dans du coton cardé ou mieux immergés, scellés sous plastique, dans une bouteille thermos contenant de l'eau à température idoine), transportés directement au laboratoire où l'exsudation du sérum se fera dans une étuve à 37° C et la décantation par centrifugation dans une centrifugeuse thermostatée maintenue à 37° C.

II.3 ÉTUDE DE LA CHARGE : L'ELECTROPHORESE

II.3.1 L'électrophorèse des protéines sériques

II.3.1.1 Résultats

L'électrophorèse sur couche mince d'agarose donne une meilleure résolution que sur support classique (acétate de cellulose). La migration se fait en tampon alcalin de faible molarité pour diminuer l'effet Joule. La quantité d'échantillon à déposer est fonction du colorant utilisé, moindre pour le noir amide que pour le rouge ponceau.

L'immunoglobuline monoclonale donne, en règle, une bande étroite (pic électrophorétique) en raison de son homogénéité de charge, généralement dans les b- ou les g-globulines.

L'enregistrement densitométrique est plus difficile à évaluer que la simple analyse du tracé : une augmentation des a2- ou des b-globulines est parfois interprétée à tort comme un pic.

La séméiologie électrophorétique des immunoglobulines monoclonales se résume à deux signes :

- un pic, qu'il est préférable de quantifier par intégration (planimétrie), plutôt que par néphélométrie (cf infra), mais qui n'est pas toujours visible.
- une hypogammaglobulinémie résiduelle secondaire, qui peut apparaître isolée (protéine de Bence Jones indétectable dans le sérum, IgA monoclonale masquée dans les b-globulines). Toute hypogammaglobulinémie, chez un sujet de 45 ans et plus, doit faire rechercher une immunoglobuline monoclonale, qu'il y ait ou non un pic à l'électrophorèse.

Bien que toute augmentation des concentrations d'IgG accélère le catabolisme des Ig de cette classe et diminue donc la concentration des IgG normales en cas d'IgG monoclonale abondante, la présence d'une hypogammaglobulinémie polyclonale est en faveur d'une affection maligne.

L'électrophorèse est le premier temps indispensable de l'analyse immunoélectrophorétique. Au vu de l'existence d'un pic, on se doit d'en préciser l'importance (appréciation subjective semi-quantitative), la position et le retentissement sur les gammaglobulines.

II.3.1.2 Principaux pièges

Les principaux pièges sont :

- *la présence de fibrinogène (cf. supra) ;*
- *l'augmentation des a2- ou des b-globulines (transferrine, composant C3 du complément, b-lipoprotéines, hémolyse importante) ;*
- *pic masqué dans les bêta (petite IgA monoclonale) : dans ce cas la baisse des IgA résiduelles peut attirer l'attention, sous forme d'une décoloration trop accentuée de la zone bg ;*
- *absence de pic en cas d'immunoglobuline monoclonale à activité cryoprécipitante pour non-respect des conditions de prélèvement ;*
- *existence de formes diversement polymérisées d'une immunoglobuline monoclonale, responsables de plusieurs pics ;*
- *complexation de l'immunoglobuline monoclonale à d'autres protéines, lui faisant perdre son homogénéité de charge : a1-anti-trypsine pour les chaînes légères, facteurs rhumatoïdes monoclonaux ;*
- *hétérogénéité de séquence aminoterminal (due à une dégradation post-synthétique limitée) et polymérisation dans certains cas de maladies des chaînes lourdes.*

En conclusion rappelons qu'une électrophorèse sérique normale n'exclut pas le diagnostic d'immunoglobuline monoclonale : une chaîne légère libre en petite quantité peut n'être détectée que dans les urines. C'est dire toute l'importance des renseignements cliniques et de l'analyse conjointe des urines. La prescription, argumentée par le clinicien, de recherche

d'immunoglobuline monoclonale impose de poursuivre l'analyse, même si l'électrophorèse sérique semble normale.

II.3.2 L'électrophorèse des protéines urinaires

Le biologiste doit être averti que les méthodes de détection par bandelette de la protéinurie sont souvent prises en défaut pour une excrétion urinaire de chaînes légères isolées.

Le principal obstacle à une interprétation correcte de cet examen est la présence de sang dans les urines.

En cas de chaîne légère libre sérique et urinaire, le pic dans le sérum et les urines a la même mobilité électrophorétique, et le plus souvent, est plus important dans les urines.

II.4 CARACTERISATION ISOTYPIQUE

II.4.1 L'immunoélectrophorèse

II.4.1.1 Principe

Méthode de référence, cette technique a été mise au point par Grabar et Williams dans les années 50, et adaptée en microméthode par Scheidegger. Il s'agit d'une réaction d'immunoprécipitation en milieu gélifié. Le premier temps consiste en une migration électrophorétique en gel d'agarose ou de gélose après dépôt de la solution à analyser dans un puits. Cette migration est effectuée en tampon alcalin de faible molarité. À la fin de la migration une rigole transversale est creusée dans la gélose et un antisérum y est déposé. Ce deuxième temps immunologique consiste donc en une double diffusion dans un plan perpendiculaire à l'axe de migration électrophorétique.

Aux zones d'équivalence respectives il se forme autant d'arcs de précipitation qu'il y a de systèmes antigène-anticorps. Initialement les protéines sont séparées selon leur charge, et se répartissent selon le profil électrophorétique habituel, des plus négatives au plus positives : albumine, α_1 -, α_2 -, β - et γ -globulines. L'utilisation d'antisérums globaux, reconnaissant toutes les protéines du sérum humain, permet ensuite de démembrer chaque groupe en visualisant les arcs respectifs de précipitation. L'analyse peut être poursuivie, en cas de pic à l'électrophorèse ou d'anomalie à l'IEL,, en utilisant des antisérums monospécifiques de chaque chaîne lourde et de chaque chaîne légère des immunoglobulines. L'homogénéité de charge de l'immunoglobuline monoclonale entraîne une incurvation de l'arc de précipitation contrastant avec la courbure harmonieuse et régulière des immunoglobulines polyclonales, anomalie qui se retrouve dans la même zone de migration pour une seule chaîne lourde et une seule chaîne légère pour un sérum donné en cas d'immunoglobuline monoclonale complète (Figure 1).

Cette analyse est toujours effectuée en comparaison avec un sérum humain normal, pour les trois isotypes majeurs (IgG, IgA et IgM). Compte-tenu des concentrations physiologiques inférieures au seuil de sensibilité de l'immunoélectrophorèse, l'étude pour les IgD et les IgE est faite en comparaison avec une immunoglobuline monoclonale connue de l'isotype concerné, et non avec le sérum humain normal. À noter que les antisérums anti-Ig polyvalents ne reconnaissent en général pas les chaînes légères libres ; l'identification de ces dernières nécessite l'emploi d'antisérums monospécifiques.

L'étude du sérum doit toujours être couplée à celle des urines en cas de suspicion de gammopathie monoclonale. En effet, dans la majorité des cas de myélome à Bence Jones, il peut arriver que la chaîne légère monoclonale sérique ne soit pas détectable, car trop minime, parfois sans hypogammaglobulinémie consécutive : seule l'analyse des urines permet alors de redresser le diagnostic en visualisant un important pic correspondant à des chaînes légères d'un seul type (Figure 2).

Malgré l'emploi d'immunsérum polyvalent et l'étude comparative avec un sérum humain normal, ou, en cas d'immunoglobuline monoclonale connue, avec l'échantillon de sérum précédent conservé en sérothèque, l'immunoélectrophorèse, ne peut être considérée comme quantitative et reste une méthode d'analyse essentiellement qualitative ou semi-quantitative.

Elle a comme principaux inconvénients d'avoir un délai de réponse long de par sa méthodologie (au moins trois jours), d'être difficilement automatisable et de nécessiter une grande expertise pour sa réalisation et son interprétation. Comme l'immunofixation, elle est soumise aux causes d'erreur des techniques de précipitation (excès d'antigène, etc.).

II.4.1.2 Immunoélectrophorèse du sérum

L'exploration d'un sérum s'articule autour d'une première étape associant une électrophorèse, une immunofixation (cf infra) ou une immunoélectrophorèse avec un antisérum dit pentavalent (mélange de 5 antisérums spécifiques respectivement dirigés contre les trois isotypes majeurs de chaîne lourde [a, g et m] et les deux isotypes de chaînes légères [k et l]) et une immunoélectrophorèse avec un antisérum polyvalent anti-protéines humaines sériques (Figure 3).

Il est impératif d'examiner les lames non seulement après lavage, fixation et coloration, mais aussi à l'état frais, après 24 heures de diffusion : en effet certains arcs, en excès d'antigène, peuvent se redissoudre ultérieurement (phénomène de zone).

La présence d'une anomalie de courbure sur l'un des arcs d'immunoglobulines, associée à la présence d'un pic sur l'électrophorèse et l'immunofixation de dépistage amène à poursuivre l'analyse à l'aide d'anti-sérums spécifiques de chaînes lourdes (des trois isotypes majeurs, cf. supra) et de chaînes légères.

Dans les rares cas d'anomalies de structure de l'immunoglobuline monoclonale (maladies des chaînes lourdes), l'immunoélectrophorèse peut permettre de les repérer grâce aux principes des réactions d'identité totale ou partielle entre les différents arcs de précipitation.

L'interprétation de cet examen requiert expérience et compétence : les difficultés et les pièges sont nombreux.

La première difficulté est représentée par le typage des IgM monoclonales. Ces dernières sont parfois responsables d'un dépôt euglobulinique autour du godet de départ par précipitation, secondaire à la basse molarité du tampon utilisé. Ce dépôt diminue d'autant la quantité de matériel antigénique, au point parfois de compromettre le typage. Par ailleurs, en cas de relative conservation des IgG, les chaînes légères de ces dernières consomment les antisérums spécifiques avant leur rencontre avec l'IgM monoclonale (effet ²parapluie²). La dépolymérisation de l'IgM (si elle est abondante) par un agent réducteur (b2-mercaptho-éthanol) ou classiquement une séparation physique des IgG et des IgM par gel-filtration (sur Séphadex G-200, réservée à des laboratoires spécialisés) ou ultracentrifugation permettent de circonvenir cet obstacle. Actuellement l'immunofixation ou l'immunoblot permettent le plus souvent ce typage.

La deuxième difficulté est celle du diagnostic de protéine de Bence Jones sérique. Pour une chaîne légère libre monoclonale sérique en faible quantité, le pic électrophorétique peut être confondu dans la zone des b-globulines et ne pas entraîner de baisse des immunoglobulines physiologiques résiduelles. Dans ce cas le tracé immunoélectrophorétique peut aussi être non informatif et interprété à tort comme normal : en effet la plupart des antisérums polyvalents anti-protéines humaines ne détectent pas, ou mal, les chaînes légères libres. Seuls des renseignements cliniques évocateurs, et l'analyse conjointe des urines permettent de redresser le diagnostic en conduisant à l'utilisation des antisérums spécifiques de chaînes légères pour l'analyse du sérum ; même si la réalisation systématique d'une immunofixation avec un immunsérum pentavalent poursuit le même objectif.

Le diagnostic de protéine de Bence Jones ne pourra cependant être affirmée qu'après avoir formellement exclu, à l'aide d'antisérums spécifique celui d'immunoglobuline monoclonale de classe IgD (tout particulièrement si La BJ est de type l car 9/10 des IgD monoclonale sont de ce type) ou IgE.

Il peut arriver, vraisemblablement pour des raisons d'accessibilité dans la molécule, qu'il soit difficile de mettre en évidence les chaînes légères (lambda plus que kappa) des IgA monoclonales, voire des IgM.

Comparativement à l'immunofixation, l'immunoélectrophorèse a des limites de détection plus élevées et un délai de réponse plus long. Cependant, dans les mains d'un professionnel averti, elle seule peut donner des informations que les autres méthodes (n'utilisant pas la diffusion en gel) ne peuvent apporter, notamment sur les autres protéines sériques ou sur les immunoglobulines de structures particulières (maladies des chaînes lourdes).

II.4.1.3 Immunoélectrophorèse des urines

L'examen des urines est le complément indispensable de l'analyse immunoélectrophorétique du sérum en cas de suspicion de gammopathie monoclonale, pour rechercher une protéinurie de Bence Jones.

Le test de thermosolubilité est désormais abandonné, car manquant de sensibilité. En cas de protéine de Bence Jones sérique et urinaire, les pics électrophorétiques sont de même migration, et, en règle, le pic urinaire est plus important.

Le principal piège méthodologique réside dans l'incapacité de la plupart des antisérums polyvalents anti-sérum humain de détecter les chaînes légères libres : l'emploi d'antisérums spécifiques anti-k et anti-l doit donc être systématique. L'absence de protéinurie de Bence Jones en cas de chaînes légères libres sériques monoclonales documentées, est exceptionnelle. Si l'échantillon urinaire a été recueilli correctement deux hypothèses peuvent être envisagées : un dépôt intra-rénal des chaînes légères, documenté sur la ponction-biopsie rénale, ou une polymérisation, qui leur fait dépasser le seuil de filtration glomérulaire, et doit conduire à l'analyse de poids moléculaire par électrophorèse en gel de polyacrylamide-SDS. Enfin, de part son utilisation d'un immunosérum polyvalent anti-protéines humaines sériques, cette analyse est prise en défaut par les protéines spécifiquement urinaires, telle que la protéine de Tamm et Horsfall (ou uromucoïde) : il existe un dépôt à l'électrophorèse, mais pas d'arc à l'immunoélectrophorèse.

II.4.2 L'immunofixation

L'immunofixation, qui est une variante méthodologique de l'immunoélectrophorèse, a l'avantage d'être plus rapide (délai de réponse en trois heures), un peu plus sensible, en partie automatisable et donc accessible à un plus grand nombre de laboratoires. C'est la méthode adoptée par les laboratoires polyvalents.

La première étape est identique et consiste en une migration électrophorétique du sérum dans un gel d'agarose. La deuxième étape, proprement immunologique, diffère, puisque l'anticorps spécifique est déposé à la surface du gel dans lequel il va pénétrer. Un précipité va se former s'il y rencontre son antigène. Les complexes antigène-anticorps sont piégés directement dans le gel, ce qui élimine certains inconvénients de l'immunodiffusion ; c'est là la principale différence avec l'immunoélectrophorèse. Il n'y a notamment pas d'effet « parapluie », ce qui peut faciliter le typage des IgM. Après lavage le précipité est coloré par un colorant spécifique des protéines.

On peut soit adapter les dilutions de l'échantillon pour atteindre une fourchette de 0,5 à 2 g/l d'immunoglobuline monoclonale suspectée, soit adapter celle des antisérums pour être dans la zone d'équivalence afin soit d'éviter les phénomènes de zone en large excès d'antigène, soit de typer un faible renforcement au sein d'une hypogammaglobulinémie.

La préincubation du sérum avec un volume adapté d'antisérums anti-chaîne légère permet, dans certains cas de gammopathie biclonale de migration identique, d'affirmer l'existence des deux immunoglobulines monoclonales de même classe si les isotypes de chaînes légères diffèrent (Figure 4).

Cette technique est principalement utilisée pour caractériser les immunoglobulines monoclonales. Elle a comme principaux inconvénients, comparée à l'immunoélectrophorèse, de totalement ignorer l'exploration des protéines sériques autres que les immunoglobulines et, surtout d'être largement utilisée (en raison de sa facilité d'exécution) par des explorateurs peu compétents et qui en ignorent les difficultés, ce qui est la cause de fréquentes erreurs de diagnostic et d'interprétation.

II.4.3 L'immuno-empreinte sur nitrocellulose

Cette technique artisanale est réservée à des laboratoires spécialisés. Elle nécessite la parfaite maîtrise du Western blot. Elle est beaucoup plus sensible et plus discriminative que l'immunoélectrophorèse et l'immunofixation, ce qui permet d'étudier les urines ou le LCR sans concentration préalable. À l'inverse, elle détecte encore plus que l'immunofixation des petits pics dans des circonstances très variées et notamment chez des sujets sains âgés de plus de 70 ans avec une fréquence proche de 70 %. Elle a en outre l'avantage de permettre l'utilisation d'anticorps non précipitants, tels que les anticorps monoclonaux, d'éviter les phénomènes de zone, d'être réversible et ainsi de permettre plusieurs typages sur une même bandelette.

III FORMES BIOLOGIQUES

III.1 PROTEINE DE BENGE JONES

Dix à quinze pour cent des myélomes ne s'accompagnent que d'une chaîne légère. C'est l'un des diagnostics immunologiques les plus difficiles : car la VS peut être normale tout comme l'électrophorèse des protéides sanguins, et la protéinurie faible, voire non mesurable. C'est dire l'importance des renseignements cliniques et celle des conditions de recueil correctes des urines (conservation à froid de l'ensemble des urines de 24 heures recueillies sur un antiseptique).

Sa toxicité rénale est plus importante et explique son plus sombre pronostic. Ce sont les chaînes légères qui sont toxiques. La quantification du débit de la PBJ urinaire est un indice pronostique.

III.2 LES MYELOMES A IGD OU A IGE

La distribution des classes et des sous-classes des Ig monoclonales ne suit que partiellement celle des plasmocytes normaux. Pour les classes IgG et IgA on note une surreprésentation des sous-classes IgG1 et IgA1.

Excessivement peu fréquents pour les myélomes à IgD, ils sont exceptionnels pour ceux à IgE. Ils posent pour cette raison les problèmes d'identification que nous avons évoqués. Les myélomes à IgD, le plus souvent à chaînes légères de type lambda, s'accompagnent souvent d'une atteinte rénale ou d'une amylose.

III.3 MALADIES DES CHAINES LOURDES

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

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

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

Contrairement la plupart des autres immunoglobulines monoclonales, les protéines des maladies des chaînes lourdes ont une structure anormale : chaînes lourdes délétées, souvent au niveau du premier domaine constant, ce qui explique leur sécrétion sans chaînes légères.

Leur concentration est souvent faible, de l'ordre du g/L ou moins, et leur présence peut ne pas être détectée par l'électrophorèse. En raison de leur structure, ces protéines ont une grande hétérogénéité de charge : s'il existe une bande à l'électrophorèse, celle-ci sera plus souvent large qu'étroite, parfois de migration très rapide, notamment pour les chaînes μ .

Dans le sérum l'immunoélectrophorèse met en évidence un constituant qui précipite avec un seul antisérum anti-chaîne lourde (a, g et m par ordre de fréquence) sans réagir avec les anti-chaînes légères. Cette absence de précipitation avec les antisérums anti-k et anti-l n'est pas un critère suffisant, notamment pour la maladie des chaînes lourdes a, puisque nous avons vu qu'il pouvait parfois être difficile de mettre en évidence les chaînes légères lambda des IgA monoclonales. On peut avoir recours à une technique spéciale d'immunosélection combinée à l'immunoélectrophorèse. Cette méthode consiste à incorporer dans la gélose des antisérums anti-chaînes légères de forte affinité afin de précipiter toutes les molécules d'immunoglobulines entières, monoclonales ou polyclonales, ne laissant plus persister que l'arc de la chaîne lourde pathologique. L'utilisation d'immunsérums sélectionnés, spécifiques de déterminants conformationnels de la région Fab, donc de l'association des chaînes lourdes et légères, est une alternative : la chaîne lourde anormale forme un éperon sur l'arc des immunoglobulines entières (présentes dans le sérum du malade ou apportées par du sérum humain normal. Les techniques non-précipitantes (western blot) sont plus faciles et informatives. Il est également facile de séparer les protéines de sérum selon leur poids moléculaire (par une électrophorèse en polyacrylamide en milieu dissociant), puis de les transférer sur nitrocellulose et de démontrer la taille anormalement courte de la chaîne lourde après révélation par l'antisérum correspondant.

III.4 MYELOME NON EXCRETANT

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

III.5 GAMMAPATHIES BICLONALES

L'observation de proliférations biclonales n'est pas exceptionnelle : le partage d'une même chaîne légère, et mieux d'idiotypes lorsque ceux-ci sont étudiés, est en faveur d'une origine commune aux deux clones. Plus fréquemment dans les lymphomes que dans les myélomes, il peut être observé des mutations somatiques dans les régions VH et VL, comme c'est le cas

au cours de la lymphopoïèse B normale. Il peut arriver que les deux Ig monoclonales, pour des raisons de charge, soient de migrations rigoureusement superposables (un seul pic, mais possibilité de réaction avec les deux antisérums anti-chaîne légère, k et l, ce qui pose des problèmes d'interprétation au biologiste non averti) (figure 4).

III.6 TRACES OLIGOCLONALES

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

IV COMPLICATIONS

IV.1 COMPLICATIONS LIÉES À L'IMMUNOGLOBULINE MONOCLONALE

De par sa concentration, son activité anticorps, ses propriétés physico-chimiques et sa grande capacité à se déposer, l'Ig monoclonale peut à elle seule induire des désordres pathologiques.

IV.1.1 Cryoglobulines

IV.1.1.1 Définition

Les cryoglobulines sont des Ig qui précipitent à basse température.

Elles doivent être différenciées des autres cryoprotéines : le cryofibrinogène. Les agglutinines froides, le plus souvent de type IgM, peuvent être cryoprécipitantes.

La qualité du rendu du résultat d'une recherche de cryoglobuline est directement liée au respect d'un protocole strict lors du prélèvement de sang : tout écart à cette procédure peut entraîner un résultat faussement négatif par cryoprécipitation dans le matériel de prélèvement ou au sein du caillot.

L'étape pré-analytique de cette recherche est du domaine de tout laboratoire de biologie, pourvu qu'il respecte la procédure de prélèvement : la caractérisation ultérieure doit de préférence être réalisée dans un laboratoire spécialisé.

IV.1.1.2 Modalités pratiques de prélèvement

À Cryoglobuline

• **Mise en évidence** Au moins deux tubes secs de 7 ml (parfois beaucoup plus dans le cas de cryoglobulines très peu abondantes) sont prélevés chez un patient à jeun de préférence avec une aiguille et une seringue préchauffée à 37° C. La recherche peut être répétée à plusieurs jours d'intervalle, le phénomène de cryoprécipitation pouvant être intermittent. La mise en évidence de la cryoglobuline repose sur l'observation régulière du sérum à + 4° C, au mieux conservé en tube fin incliné à 45°, pendant au moins 8 jours et parfois 14 jours,, ceci en raison de la cinétique parfois longue de précipitation de certaines cryoglobulines peu abondantes (la vitesse et la température de précipitation, parfois élevée, avec risque d'accidents dramatiques, sont en partie fonction de la concentration de la cryoglobuline). La positivité se traduit par l'apparition d'un précipité donnant un aspect en volutes de fumée lorsqu'il est remis en suspension, ou plus rarement d'un gel, qui se résolubilise totalement après réchauffement à 37°C. Après décantation du sérum, une fraction aliquote est mise de côté pour la réalisation d'une immunoélectrophorèse, en cas de cryoglobulinémie avérée, afin de pouvoir la typer (présence ou non d'une immunoglobuline monoclonale). L'ensemble des manipulations devra être effectué à +37°C.

• **Dosage et typage**

• **Dosage du cryoprécipité** Le dosage peut se faire avant tout lavage, dans l'incertitude cependant de ce que l'on dose Il peut se faire par l'estimation du cryocrite (volume occupé par le cryoprécipité dans des tubes spécifiquement dédiés [tubes de Félix]), estimation imprécise pour les cryoglobulines de faible abondance, d'autant que la capacité de compression en cours de centrifugation varie d'une cryoglobuline à l'autre, ou mieux par la lecture de l'absorbance à 280 nm en utilisant le coefficient d'extinction des g-globulines, qui n'est néanmoins pas entièrement fiable en raison de la présence possible d'autres protéines et de la perte aléatoire de matériel au cours des lavages..

• **Typage** Il se fait après plusieurs lavages successifs avec du sérum physiologiques à + 4°C suivis de centrifugation à la même température pour éliminer les protéines contaminantes. Le typage immunochimique, à l'aide d'antisérums spécifiques des chaînes lourdes et légères d'immunoglobuline, peut se faire soit selon la technique d'immunodiffusion double d'Ouchterlony, soit en immunofixation, immuno-électrophorèse ou western blot, et électrophorèse.

Elle aboutit à la classification en trois types :

- type I : un seul composant, monoclonal,
- type II : un composant monoclonal et des immunoglobulines polyclonales,
- type III : que des immunoglobulines polyclonales.

Cryofibrinogène : le cryofibrinogène se forme dans le plasma et est composé de : fibrine, fibrinogène, produits de dégradation de la fibrine, albumine, fibronectine, immunoglobulines, facteur VIII et d'autres protéines plasmatiques. Touchant 2 à 8% des sujets sains, sa prévalence est estimée dans une étude récente à 27% des sujets présentant des signes cliniques évocateurs de cryoprotéine. Portant sur 30 patients avec une cryofibrinogénémie isolée et 19 avec une association cryofibrinogène/cryoglobuline cette étude retrouve une prédominance de signes cutanés (ulcérations récidivantes à l'exposition au froid) en cas de cryofibrinogénémie idiopathique, qu'elle soit isolée ou associée à une cryoglobuline. Ces formes associées sont plus volontiers secondaires à des maladies infectieuses, des connectivites mixtes, des maladies malignes. La composition du cryoprécipité varie aussi selon le statut : prédominance des immunoglobulines en cas d'association, et alors de même(s) classe(s) que celle(s) de la cryoglobuline, fibronectine en cas de cryofibrinogénémie isolée. Beaucoup plus rarement demandée, cette recherche doit se faire en respectant les mêmes règles thermiques que celle des cryoglobulines. Le sang est recueilli sur anticoagulant (citraté, oxalate ou EDTA), mais non héparine, car celle-ci précipite le cryofibrinogène. La recherche concomitante de cryoglobuline sur sérum est obligatoire pour l'interprétation.

IV.1.2 Immunoglobulines monoclonales à activité anticorps identifiée

Lorsqu'elle a été identifiée, l'activité anticorps des Ig monoclonales est caractérisée par une grande fréquence des activités auto-anticorps.

Cela se conçoit bien dans la leucémie lymphoïde chronique, dans laquelle la prolifération lymphocytaire se fait à partir d'une sous-population particulière de lymphocyte B, les lymphocytes B1 ou CD5, produisant normalement des auto-anticorps (dirigés par exemple contre des substances de groupes sanguins et responsables d'anémies hémolytiques auto-immunes).

Une mention spéciale doit être faite pour les activités antimyéline portée par des IgM monoclonales, isolées ou entrant dans le cadre d'une maladie de Waldenström.

IV.1.3 Hyperviscosité

Certaines immunoglobulines monoclonales, le plus souvent des IgM, en raison de leur concentration élevée, mais aussi pour des raisons biochimiques (polymérisation...) sont responsables d'un syndrome clinique d'hyperviscosité. Il est donc plus fréquent dans la maladie de Waldenström.

Ce syndrome d'hyperviscosité donne quelquefois lieu à des manifestations cliniques caricaturales : la physiopathologie en est aisément accessible. Il peut justifier la réalisation d'échanges plasmatiques dans une atmosphère d'urgence. Il se manifeste par :

- des saignements anormaux, notamment purpura ou hémorragie muqueuse,
- des perturbations visuelles avec dilatation ou segmentation des veines rétiniennes, hémorragie et parfois œdème papillaire,
- des troubles des fonctions supérieures avec vertiges, syncopes, somnolence et parfois convulsions, voire coma,
- et une dyspnée par distension du lit capillaire pulmonaire.

Il nécessite un traitement d'urgence par plasmaphérèse.

La surveillance de la viscosité sérique dans ces cas permet de suivre l'évolution sous traitement (échanges plasmatiques). Cette analyse nécessite un minimum de 2 ml de sérum.

La détermination de la viscosité consiste à mesurer le temps que met le sérum d'un patient pour s'écouler entre deux repères sur un viscosimètre. Cette mesure est rapportée à celle d'un sérum humain normal de référence. L'analyse doit être effectuée deux fois pour contrôler les concordances. Si le sérum contient une cryoglobuline, la mesure reste possible mais elle doit être faite à + 37° C (étuve) pour que le résultat soit correct.

IV.1.4 Troubles de l'hémostase

La présence des Ig monoclonales à la surface plaquettaire après liaison aux récepteurs des Fc, peut entraver l'hémostase primaire, en conjonction avec l'insuffisance médullaire. On décrit des Ig monoclonales de classe IgG anti-facteur VIII.

IV.1.5 Dépôts tissulaires d'Ig monoclonales

Quatre maladies sont associées à des dépôts tissulaires d'Ig monoclonales ou de chaînes constitutives.

Le dépôt s'explique parfois par des mutations au niveau des gènes V. On note également une utilisation préférentielle de certains sous-groupes de variabilité des gènes V : Vl6 dans l'amylose, Vk4 dans la maladie de Rendall et Vk1 dans le Fanconi.

IV.1.5.1 Néphropathie tubulaire du myélome

Elle est fréquente (40-50 %) et fait suite à l'obstruction des tubes principalement par les chaînes légères, plus particulièrement lambda. L'évolution se fait vers l'insuffisance rénale chronique.

IV.1.5.2 Le syndrome de Fanconi

Il est rare, et associe un myélome peu évolutif avec des troubles de la réabsorption tubulaire. Sur le plan morphologique on observe des cristaux dans les plasmocytes, les macrophages et les cellules tubulaires.

IV.1.5.3 L'amylose

L'amylose est constituée d'un matériel protéique homogène, extracellulaire amorphe, d'aspect hyalin, caractérisés en microscopie optique par une biréfringence vert-jaune après coloration au rouge congo et examen au microscope à lumière polarisée. Au microscope électronique, sa structure est composée de fibrilles enchevêtrées de structure b plissée et de diamètre compris entre 60 et 100 μm . Elle provient de la précipitation dans les tissus de diverses protéines (18 répertoriées à ce jour).

Du à la multiplicité des sites de dépôt, l'amylose est souvent responsable d'atteintes viscérales multisystémiques au pronostic redoutable.

Si l'on exclut les très rares formes héréditaires ou familiales, les maladies à prions et l'Alzheimer, on distingue principalement deux catégories d'amyloses :

- l'amylose systémique réactive de type AA résulte d'une production excessive de protéines de la phase aiguë durant une longue période (infections chroniques, arthrite rhumatoïde, maladie inflammatoire, maladie de Hodgkin).
- l'amylose immunoglobulinique, secondaire à une immunoglobuline monoclonale (dont les particularités expliquent la formation des fibrilles) dans laquelle le matériel précipité est constitué de chaînes légères monoclonales entières ou tronquées (ce qui est possiblement un artéfact d'étude de matériel nécropsique) (amylose AL) ou, exceptionnellement de chaînes lourdes porteuses de délétions internes (amylose AH). Les chaînes légères amylogènes sont plus souvent de type lambda. Il peut s'agir d'une complication d'un myélome multiple ou d'une maladie de Waldenström, mais plus souvent d'une situation en apparence primitive. Ainsi, l'amylose AL s'observe dans des gammopathies monoclonales de signification indéterminée. L'absence de prolifération maligne décelable contraste avec la gravité de la maladie (moyenne de survie de l'ordre de 18 mois). C'est aussi un bon exemple des situations dans lesquelles une Ig monoclonale particulière par sa structure (comme dans les maladies de dépôts d'Ig monoclonale) ou son activité anticorps (anémies hémolytiques, neuropathies, etc.) est cliniquement « parlante » à un stade

évolutif précoce de la prolifération, avant que toute prolifération maligne avérée soit décelable.

IV.1.5.4 La maladie de dépôt de chaînes légères ou d'Ig monoclonale

Décrite initialement par Rendall, elle se caractérise par des dépôts non amyloïdes d'aspect granuleux en microscopie optique capables de toucher de nombreux tissus : rein foie, cœur, tissu nodal principalement. Au niveau rénal ces dépôts seront responsables d'un syndrome néphrotique, d'une glomérulosclérose nodulaire et d'une insuffisance rénale rapidement progressive. Il existe toujours une population plasmocytaire monoclonale, produisant une Ig monoclonale qui peut ne pas être détectable dans le sérum car produite en trop faible quantité. L'Ig déposée peut être une chaîne légère, plus souvent kappa, ou une chaîne lourde sans chaîne légère.

IV.1.5.5 L'insuffisance rénale

Elle le plus souvent d'installation progressive, mais peut parfois revêtir l'aspect d'une insuffisance rénale aiguë, oligo-anurique, nécessitant une épuration extra-rénale. Nous avons vu que différentes étiologies peuvent s'intriquer. Deux points sont à retenir :

- une insuffisance rénale à calcémie normale ou élevée doit être considérée jusqu'à preuve du contraire comme un myélome,
- l'utilisation de produit de contraste pour l'imagerie, si elle est nécessaire, doit se faire sous couvert d'une hydratation correcte.

IV.2 COMPLICATIONS LIEES AU DEFICIT IMMUNITAIRE

IV.2.1 Le dosage des immunoglobulines

Le dosage des immunoglobulines IgG, IgA, IgM ne présente aucun intérêt pour le diagnostic d'une anomalie monoclonale, ni en général pour la quantification d'une Ig monoclonale, souvent erronée par cette technique et mieux faite par la simple électrophorèse. Mais il doit être réalisé dans un tel contexte pour apprécier le retentissement de l'anomalie sur les clones normaux. Chez l'adulte, un taux abaissé et à plus forte raison effondré des isotypes non affectés par le processus par exemple des IgA et des IgM en cas d'anomalie monoclonale des IgG témoigne en général d'un déficit immunitaire secondaire (bien que toute augmentation de la concentration des IgG entraîne une accélération

proportionnelle de leur catabolisme et donc une diminution des IgG normales en cas d'IgG monoclonale) et suggère l'existence d'une prolifération. Dans l'évolution d'une affection monoclonale maligne et parfois dans son expression initiale, le tableau est fait d'infections récidivantes conséquences du déficit en immunoglobulines (les infections sont la première cause de mortalité dans le myélome).

L'interprétation des dosages des immunoglobulines par néphélométrie chez un patient ayant une immunoglobuline monoclonale doit être faite avec prudence. Il peut arriver, en cas de pic important ou en raison du caractère polyclonal des antisérums utilisés, que le dosage de l'isotype correspondant à l'immunoglobuline monoclonale soit exagérément minoré, parce qu'il est fait en excès d'antigène ou que les épitopes spécifiques de cette immunoglobuline particulière ne sont pas reconnus par l'antisérum. Ceci se voit plus volontiers en cas d'IgM monoclonale. À l'inverse, l'existence d'une immunoglobuline monoclonale (le plus souvent de classe IgM) peut perturber le dosage néphélométrique d'autres protéines (IgA, ferritine, protéine C réactive)].

L'électrophorèse des protéines à condition de pouvoir isoler sur l'enregistrement le pic monoclonal est le meilleur moyen de quantification du composant monoclonal.

Le dosage des chaînes légères en particulier dans les urines est intéressant pour la surveillance d'une anomalie monoclonale faite de chaînes légères (protéine de Bence Jones).

IV.2.2 Les infections

La susceptibilité aux infections bactériennes à germes encapsulés, principalement pulmonaire, est favorisée par le déficit de l'immunité humorale spécifique, la toxicité des polychimiothérapies et les fractures de côtes.

IV.3 COMPLICATIONS LIEES A LA PROLIFERATION TUMORALE

IV.3.1 L'hypercalcémie

Elle est liée à l'importance de l'ostéolyse. Ses principales manifestations cliniques sont digestives, neurologiques, cardio-vasculaires et métaboliques.

IV.3.2 Les complications neurologiques

IV.3.2.1 Les compressions médullaires

Elles font suite soit à une protrusion du mur postérieur vertébral au cours d'une fracture-tassement, soit à une atteinte épidurale plasmocytaire. C'est une urgence thérapeutique.

IV.3.2.2 le POEMS syndrome

Le POEMS syndrome, syndrome exceptionnel, associe polyneuropathie (P), organomégalie (O), endocrinopathie (E), myélome condensant (M pour M component) et atteinte cutanée (S pour skin).

IV.3.3 Les complications osseuses

Citons les fractures hyperalgiques, conduisant à l'alitement et à ses complications propres.

V FORMES CLINIQUES

À l'heure actuelle, il n'existe aucun critère biologique reconnu permettant sur la base d'examens biologiques limités aux caractéristiques du composant monoclonal d'affirmer le caractère malin ou bénin de l'anomalie sous-jacente. Cependant une anomalie quantitativement très importante, surtout si elle est accompagnée d'une hypo-immunoglobulinémie résiduelle et d'une PBJ urinaire est un critère important de gravité. Les autres critères sont hématologiques (plasmocytose médullaire, anémie, etc.).

C'est surtout en cas de découverte fortuite que se pose le problème du diagnostic étiologique. Cette situation n'est pas rare.

Dans un contexte infectieux et évolutif, il ne faut pas forcément attacher trop d'importance à la découverte d'un pic monoclonal, surtout s'il est peu important. En effet, on a décrit dans de nombreuses situations infectieuses avec présence en faible abondance et de manière transitoire d'un composant monoclonal :

- cytomégalovirose,
- fièvre Q,
- mononucléose infectieuse aiguë

- hépatite B, hépatite C,
- infection HIV,
- salmonellose,
- leptospirose,
- endocardites.

Le caractère transitoire et résolutif doit être contrôlé lors d'un nouveau prélèvement à quelques mois de distance.

Des Ig monoclonales dites bénignes se rencontrent également dans des circonstances très diverses, telles que certaines maladies cutanées (pyoderma gangrenosum, mucinose papuleuse, xanthome plan), l'angioedème acquis récidivant, des maladies de surcharge (Gaucher), des neuropathies, des hépatopathies, tous les états de déficit immunitaire primitif ou secondaire et surtout au cours du vieillissements (la fréquence des Ig monoclonales chez les sujets de 70 ans et plus varie selon la technique de détection (environ 10 % des sérums normaux en IEL ou IF, 70 % en western).

V.1 IMMUNOGLOBULINE MONOCLONALE DE SIGNIFICATION INDETERMINEE

La découverte – fortuite ou lors de l'exploration d'une vitesse de sédimentation augmentée – d'un pic monoclonal peut entraîner de réelles incertitudes diagnostiques. Selon sa nature IgM ou non, ce pic fera évoquer en premier lieu et respectivement une maladie de WALDENSTRÖM ou un myélome, et justifie la recherche d'un syndrome tumoral clinique, d'un retentissement métabolique et sur l'hémogramme, la pratique de clichés du squelette intéressant au moins les os plats et d'une ponction sternale. Si tous ces éléments sont normaux ou négatifs, la gammopathie a d'autant plus de chance de ne pas être maligne qu'elle ne s'accompagne pas d'une anémie, d'une insuffisance rénale, d'une hypercalcémie ou d'un déficit des immunoglobulines polyvalentes évalué par l'électrophorèse mais aussi leur dosage pondéral.

Des études d'histomorphométrie osseuse ont démontré que même ainsi, un certain pourcentage de patients avait une activité ostéoclastique perturbée. Ces gammopathies sont isolées ou accompagnent des situations pathologiques variées. Vingt-cinq à quarante pour cent d'entre elles évoluent en myélome en une vingtaine d'années.

Ce diagnostic implique une abstention thérapeutique et une surveillance clinique et biologique à minima par l'électrophorèse des protéines tous les 3 mois, puis tous les 6 mois, puis tous les ans.

L'absence de contexte clinique et l'absence de modification significative de l'électrophorèse à 6 mois sont des éléments diagnostiques d'une valeur importante, pour classer l'anomalie biologique dans ce cadre.

V.2 MYELOME MULTIPLE

V.2.1 Introduction

Encore appelée maladie de Kahler, cette prolifération plasmocytaire néoplasique invariablement fatale prolifère préférentiellement dans la moelle osseuse, sous forme nodulaire et parfois diffuse. L'infiltration tumorale peut intéresser la rate, le foie, les ganglions, le plus souvent sans retentissement clinique. Parfois des cellules plasmocytaires envahissent le sang : lorsque cet envahissement est massif, on parle de véritable leucémie à plasmocytes.

Plus de 80 % des patients atteints d'un myélome multiple ont une immunoglobuline monoclonale sérique dont l'activité anticorps unique (le plus souvent non identifiée) s'est, de façon très remarquable, avérée être dirigée préférentiellement contre un autoantigène lorsqu'elle a été recherchée systématiquement. Moins fréquemment, les plasmocytes malins peuvent aussi sécréter seulement une chaîne légère. Exceptionnellement ils peuvent ne pas excréter la protéine qu'ils synthétisent (myélome dit non-excrétant, en fait défini par l'absence d'Ig monoclonale décelable dans le sérum et l'urine ; il s'agit le plus souvent de la production d'Ig de structure anormale, rapidement dégradée et/ou déposée dans les tissus après son excrétion).

Le myélome se caractérise par la présence presque constante, d'emblée ou au cours de l'évolution, de manifestations osseuses.

Dans la majorité des cas, l'intervalle écoulé entre la transformation maligne d'une cellule et l'accumulation d'une masse tumorale accessible au diagnostic est d'au moins deux ans, parfois dix à vingt. Le myélome est une maladie à cinétique de croissance tumorale lente, avec un temps de doublement long à sa phase initiale. C'est une affection du sujet déjà âgé, survenant dans la cinquième ou sixième décennie. Son incidence est d'environ 3/105 sujets. Il n'y a pas de prépondérance sexuelle. Le myélome reste encore une maladie incurable avec une médiane de survie d'environ trois ans. Certains espoirs thérapeutiques s'esquissent cependant : - les sujets jeunes plus seulement sont candidats à des approches à visée éradicatrice (mais la rechute est constante) intensives avec greffes de cellules souches hématopoïétiques (autogreffe de moelle ou greffe de cellules souches sanguines) - utilisation de l'interféron alpha en traitement d'entretien dans les phases de plateau - utilisation des biphosphonates (clodronate [Clastoban®], pamidronate [Arédia®], zolédronate) pour le contrôle des épisodes hypercalcémiques et celui des douleurs osseuses. À côté de la classification de Salmon et Durie, visant à estimer de manière indirecte la masse

tumorale, d'autres paramètres pronostiques sont couramment utilisés pour apprécier l'agressivité de la maladie et l'espérance de survie : index de marquage des plasmocytes, concentrations de protéine C réactive et bêta-2-microglobuline, anomalies chromosomiques, délétion du chromosome 13 surtout.

V.2.2 Physiopathologie

Aucun facteur étiologique n'est actuellement identifié de façon formelle. Il ne semble pas y avoir de terrain familial.

V.2.2.1 Prolifération plasmocytaire

Les cellules plasmocytaires tumorales prolifèrent sous l'effet d'un facteur de croissance, l'interleukine 6 (IL-6), dont la production est à la fois autocrine et paracrine. Une implication du virus HHV8 dans la pathogénie de la maladie fait l'objet de débats. La prolifération pathologique implique fréquemment une altération de la transduction du signal liée à des mutations de N-Ras ou de K-Ras. Celles-ci sont observées 1 fois sur 4 au diagnostic, fréquence qui double en cours d'évolution. Seul un faible pourcentage de cellules myélomateuses est en division (en phase S du cycle cellulaire) : la détermination de ce taux par l'index de marquage après exposition à la thymidine tritiée serait un bon facteur pronostique : plus il est élevé, moins bon est le pronostic. Certaines proliférations de faible masse tumorale peuvent rester stables pendant des mois, voire des années, ne justifiant qu'une surveillance clinique : on parle de « myélome indolent ». Les substances relarguées par les plasmocytes malins sont au premier plan et peuvent inclure : - soit une immunoglobuline monoclonale entière, reflet grossier de la masse tumorale. Cette immunoglobuline complète a une structure normale. Lorsque son taux de synthèse est important, l'hyperprotidémie générée peut entraîner un syndrome d'hyperviscosité et une hypervolémie plasmatique. - soit une chaîne légère à l'état libre, laquelle peut se déposer dans les tissus dans l'amylose dite AL (A pour amylose et L pour chaîne légère) et la maladie des dépôts de chaînes légères (LCDD ou maladie de Randall) et/ou bien être excrétée dans les urines et autrefois appelée Protéine de Bence Jones (PBJ, classique phénomène de thermosolubilité - précipitation au chauffage en présence d'acide acétique et redissolution à l'ébullition- inconstant et qui n'est plus recherché). - dans la majorité des cas, à la fois une Ig monoclonale entière et une PBJ Environ 20 % des immunoglobulines monoclonales sont des chaînes légères isolées qui ne sont généralement décelables que dans les urines, dont l'analyse doit être systématiquement couplée à celle du sérum en cas de suspicion de myélome. L'Ig monoclonale entière est 3 fois sur 4 de classe IgG, moins souvent IgA. (la distribution en sous-classes d'IgG et IgA ne reflète pas celle des

plasmocytes normaux). L'Ig monoclonale est de classe IgM dans environ 1 % des cas. Les IgD ou IgE sont exceptionnellement en cause. Les myélomes non excrétants ou non secrétants (inconnu chez l'homme) sont eux aussi exceptionnels (1 % des cas). C'est le plus souvent des raisons rhéologiques, et non une inflammation, qui expliquent l'élévation de la vitesse de sédimentation, et l'aspect « en pile d'assiettes » ou rouleaux des hématies sur le frottis sanguin. - Un facteur d'activation des ostéoclastes (OAF), terme regroupant les substances responsables de la lyse osseuse à proximité ou à distance des foyers tumoraux. L'interleukine 1 (IL-1) et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF α) participent à cette activité cytokinique, ainsi que l'IL-6. C'est l'activité ostéoclastique qui est responsable des douleurs osseuses évocatrices, des fractures pathologiques et de l'hypercalcémie. Les images radiologiques peuvent être celles, caricaturales, des géodes à l'emporte-pièce préférentiellement observées sur le crâne et les autres os plats. Parfois, l'aspect est celui d'une simple déminéralisation diffuse, éventuellement trompeuse chez la femme âgée. Un aspect particulier est celui des fractures-tassements dont on retient qu'au niveau vertébral elles intéressent toujours le corps de la pièce osseuse. La réduction à la fois de l'hématopoïèse et de la production normale d'anticorps polyvalents peuvent se trouver responsables de la fréquence et de la gravité des infections, le déficit d'anticorps explique l'incidence accrue des infections à germes gram positif (streptocoque, hémophilus). La compression médullaire par coulée épidurale est un exemple d'une complication locale de l'infiltration tumorale. La physiopathologie de l'insuffisance rénale est moins univoque. Il s'agit le plus souvent d'une tubulopathie directement liée aux chaînes légères libres, surtout de type 1 (rein myélomateux) Elle peut provenir aussi des dépôts amyloïdes ou de chaînes légères, d'infections, d'une déshydratation notamment en cas d'hypercalcémie. Qu'il soit permis de rappeler ici d'une part qu'une insuffisance rénale à calcémie normale est un myélome jusqu'à preuve du contraire, d'autre part que la scintigraphie osseuse est un mauvais examen dans cette maladie, par manque à la fois de spécificité et de sensibilité. L'IL-6 constitue un facteur de croissance partiellement autocrine et partiellement paracrine du plasmocyte tumoral. Sous l'effet de l'IL-6, le foie secrète de la protéine C réactive (CRP) en l'absence de toute inflammation. Ce marqueur devient alors un témoin de l'agressivité de la maladie. On l'associe parfois à la bêta-2-microglobuline, fragment de la classe I du système HLA qui reflète la masse tumorale, pour proposer une classification pronostique. Il est alors nécessaire de pondérer la valeur de la bêta-2-microglobuline en fonction de l'éventuel degré d'insuffisance rénale puisque cette substance est entièrement filtrée par le glomérule et réabsorbée par le tubule. L'IL6 régule négativement la production hépatique de l'albumine, ce qui peut isolément expliquer la possibilité d'une hypoalbuminémie en cas de myélome à forte masse tumorale. Bien entendu, c'est l'identification de la plasmocytose tumorale, anormale soit par sa morphologie, soit par son nombre (>10 %), qui authentifiera le myélome. C'est toujours le modèle décrit par Salmon et Durie en 1974 qui est le plus fréquemment utilisé comme classification. Il repose sur la quantité de composant monoclonal sérique et urinaire, le nombre de lésions osseuses, l'apparition d'une anémie et d'une hypercalcémie mais aussi sur l'existence d'une insuffisance rénale (A ou B). Les

malades atteints de myélome de stades II et III, agressifs, ont une espérance de vie globalement inférieure à 3 ans, et souvent beaucoup plus courte. Celle-ci a bénéficié de l'introduction, chez les malades de moins de 65 ans, de l'autogreffe de cellules souches autologues précédée d'une polychimiothérapie et d'une irradiation corporelle totale, sans toutefois que cette nouvelle approche bouleverse la durée de vie moyenne, malgré la possibilité de survie prolongée dans certains cas. Certains auteurs restent fidèles aux chimiothérapies « lourdes ». Lorsque ces traitements ne sont pas envisageables, des polychimiothérapies orales ambulatoires de type alkéran-prednisone (protocole d'Alexanian) constituent le traitement le plus standard.

V.2.3 Diagnostic

V.2.3.1 Circonstances de découverte

Le plus souvent le myélome est découvert à l'occasion de signes osseux : douleurs osseuses, parfois fractures spontanées ou non. Ailleurs, ce sont des signes biologiques qui vont attirer l'attention : accélération de la vitesse de sédimentation, pic à l'électrophorèse des protéines sériques. Parfois c'est une complication qui révèle le myélome : infection, complication neurologique, insuffisance rénale.

V.2.3.2 Manifestations cliniques

5. 2. 3. 2. 1 - Manifestations osseuses

5. 2. 3. 2. 1. 1 - *signes cliniques*

Les douleurs sont fréquentes (70 % au diagnostic, 90 % au cours de l'évolution. Elles sont d'intensité et d'horaire variables, localisées ou diffuses, mais jamais erratiques. Elles touchent le rachis, le gril costal, le bassin. Peuvent exister en association des radiculalgies, sciatiques ou cervico-brachiales.

Des fractures pathologiques peuvent apparaître, spontanément ou pour des efforts minimes. Leur gravité tient à leur localisation : rachidiennes avec le risque de tassement vertébral et de compression médullaire aiguë, diaphyse des os longs, côtes et retentissement respiratoire.

Les tumeurs osseuses sont moins fréquentes et plus tardives : elles intéressent essentiellement les os plats (crâne, sternum).

5. 2. 3. 2. 1. 2 - *Signes radiologiques*

L'aspect le plus typique est celui des géodes à l'emporte-pièce : zones d'ostéolyse, rondes ou ovalaires, sans condensation périphérique, très évocatrices au niveau de la voûte crânienne, mais aussi du gril costal, du bassin et des extrémités des os longs.

Moins fréquente est la déminéralisation diffuse sans ostéolyse, simulant une ostéoporose, parfois associée à des fractures-tassements vertébraux.

Les fractures les plus fréquentes intéressent le rachis, réalisant des tassements multiples, biconcaves, cunéiformes ou en galette, respectant le disque vertébral.

Les formes ostéocondensantes sont exceptionnelles et en général inscrites dans un tableau très particulier.

L'imagerie par tomодensitométrie, et mieux résonance magnétique a pour indication principale l'évaluation de la coulée épидurale lors d'une suspicion de compression médullaire.

La scintigraphie n'a aucun intérêt dans le myélome car pas plus performante que la radiologie conventionnelle.

5. 2. 3. 2. 2 - **Autres manifestations cliniques**

L'altération de l'état général s'observe le plus souvent dans les formes avancées, le plus souvent sans fièvre, en dehors des complications infectieuses.

En règle, il n'existe pas de syndrome tumoral palpable : pas d'organomégalie (hépatosplénomégalie, adénomégalie).

Les localisations extra-médullaires sont rares, et le plus souvent le propre de formes avancées. Elles seront détaillées dans les formes cliniques, ainsi que les complications.

V.2.3.3 **Autres manifestations cliniques**

5. 2. 3. 2. 1 - **Modifications de l'hémogramme**

Une anémie normochrome, normocytaire, arégénérative est très fréquente (60 %) dans le myélome, souvent multifactorielle (insuffisance médullaire, rénale, hypervolémie plasmatique).

Elle s'accompagne volontiers d'un aspect évocateur en piles d'assiettes ou en rouleaux des hématies, non pathognomonique.

Les neutropénies et/ou thrombopénies sont plus rares, et plus tardives, accentuées par les chimiothérapies.

Un discret passage sanguin de plasmocytes est parfois noté, inférieur à 3 % des leucocytes.

5. 2. 3. 2. 2 - Étude la moelle osseuse

Le myélogramme par ponction sternale met en évidence :

- une plasmocytose médullaire franche supérieure à 10 %, constituée de cellules anormales (plurinucléées, avec inclusion cytoplasmique, aspect flammé du cytoplasme, cellules vacuolées de Mott, corps de Russel) ;
- rarement le myélogramme est normal, par inégalité de répartition de la prolifération plasmocytaire : il faut alors avoir recours à la biopsie ostéo-médullaire qui seule est à même de détecter les foyers plasmocytaires, qui ont d'autant plus de probabilité d'être malins qu'ils sont de localisation péri-artérielle ou proche des travées osseuses.

5. 2. 3. 2. 3 - Le reste du bilan initial

Il a pour but de :

- rechercher une éventuelle complication,
- d'évaluer l'agressivité (protéine C réactive) et la masse tumorale (bêta-2-microglobuline) pour apprécier le pronostic.

V.2.4 Formes cliniques

V.2.4.1 Les myélomes non excrétants

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

V.2.4.2 Les plasmocytomes solitaires

Il existe deux variétés de plasmocytomes solitaires, selon leur localisation osseuse ou extra-osseuse.

Le plasmocytome osseux solitaire se présente sous la forme d'une lésion le plus souvent ostéolytique du rachis, du pelvis et du fémur, avec parfois un aspect radiologique multikystique en bulles de savon. C'est la biopsie qui permet le diagnostic, les prélèvements médullaires en d'autres sites étant normaux. Le contingent monoclonal peut être décelable et disparaître après un traitement local chirurgical ou une irradiation. Des rémissions prolongées (5 à 20 ans) sont possibles, mais l'histoire naturelle de la maladie est la progression vers un authentique myélome multiple.

Le plasmocytome extra-osseux prend le plus souvent naissance dans le sous-épithélium des voies aériennes supérieures, parfois d'autres tissus mous (testicule, etc.). Après un traitement local bien conduit, son évolution vers un authentique myélome multiple est beaucoup plus rare, la dissémination se faisant plutôt comme celle d'un cancer.

V.2.4.3 La leucémie à plasmocytes

Elle réalise un tableau de leucémie aiguë (signes généraux, fièvre, insuffisance médullaire) avec une plasmocytose sanguine supérieure à 20 %. Son pronostic est sombre.

V.2.5 Évolution et pronostic

L'évolution du myélome est invariablement fatale. Si chacune des complications énumérées plus tôt est susceptible d'être fatale, les causes principales de décès sont les infections et de la progression du syndrome tumoral. En l'absence de traitement, la survie médiane est d'environ 6 mois. Il est classique de prévoir une survie médiane de 3 ans en cas de réponse au traitement initial, et de le réduire de moitié dans le cas contraire ou en présence d'une atteinte organique significative lors du diagnostic. Un quart des patients survit plus de 5 ans, moins de 5 % d'entre eux vit plus de 10 ans. Ces chiffres bruts recouvrent, on s'en doute, des situations bien différentes que les groupes coopératifs s'attachent à distinguer.

La classification clinique de Salmon et Durie tente de corréliser un certain nombre de paramètres courants à l'intensité de la masse tumorale. Encore utile, elle a depuis longtemps dévoilé ses insuffisances. La combinaison du taux circulant de Beta2microglobuline et de l'index de marquage des plasmocytes lorsque sa mesure est possible est sans doute plus précise. Des valeurs faibles de ces 2 paramètres laissent espérer une survie supérieure à 6 ans.

Plus récemment, l'existence en cytogénétique conventionnelle ou en FISH d'une délétion partielle du chromosome 13 comporte - surtout lorsqu'elle est associée à une élévation de la Beta2microglobuline - une valeur pronostique péjorative. L'accord n'est pas fait sur la portion critique du chromosome, même si 13q14 semble incriminé.

V.3 TRAITEMENT

V.3.1 Principes

Les gammopathies monoclonales ne doivent en aucun cas recevoir de traitement avant que la preuve de leur malignité ait été apportée. Tous les patients répondant aux critères minimaux du diagnostic de myélome ne doivent pas être traités d'emblée : l'indication apparaît lorsque la masse tumorale devient importante, ce qui correspond grossièrement au stade II ou III de la classification de Salmon et Durie, ou en présence d'une complication.

V.3.2 Moyens

La polychimiothérapie représente le moyen thérapeutique le plus utilisé. Le traitement de référence, ambulatoire, a été décrit par Alexanian en 1969 et associe des cures de 4 jours associant melphalan (8mg/m²/j) et prednisone (40 mg/m²/j), l'intervalle historique de 6 semaines étant dans les faits devenu mensuel. Une réponse est objectivable pour 50-60 % des patients, elle est habituellement entretenue par la poursuite de ce traitement jusqu'à l'obtention d'une phase de plateau et en tout cas au moins un an. Ce qui expose au risque d'une myélodysplasie voire d'une leucémie aiguë secondaire. Des polychimiothérapies intraveineuses séquentielles introduisant vincristine, cyclophosphamide et anthracyclines ont également été beaucoup prescrites, pour être progressivement supplantées par le VAD, initialement proposé en traitement des rechutes. Ce traitement repose sur la perfusion continue de faibles doses d'adriamycine (9 mg/m²/j) et de vincristine (0,4 mg/m²/j) pendant 4 jours et sur des assauts de 40 mg/j x 4j de dexaméthasone eux-mêmes espacés par des périodes de 4 jours au moins les 2 premiers cycles. Les rémissions obtenues sont partielles et transitoires. L'Interféron alpha été proposé pendant les années 90 en tant que traitement d'entretien, mais est aujourd'hui abandonné dans cette indication. Le thalidomide à une dose allant de 200 à 800mg/j est efficace dans près d'un tiers des situations de rechute, la réponse chez les patients répondeurs étant durable. Il agirait en réduisant la néoangiogenèse tumorale.

La radiothérapie à une dose équivalente à 20-25 Grays en étalement classique permet de contrôler un processus douloureux et/ou tumoral localisé non contrôlé par la chimiothérapie.

L'autogreffe de cellules-souches hématopoïétiques permet d'obtenir (au prix d'une mortalité initiale non-négligeable) d'authentiques rémissions complètes dans plus d'un quart des cas, et une survie sans progression à 3 ans de l'ordre de 60 %, avec cependant une médiane de survie qui n'est pas vraiment affectée, parfois très prolongée, mais la rechute (inéluçtable) immunologique pouvant précéder longtemps la rechute clinique. Le traitement par double autogreffe ne semble pas apporter de bénéfice supplémentaire, sauf peut-être aux patients dont le taux de Beta2microglobuline au diagnostic est faible. La sélection positive des cellules CD34+ avant congélation du greffon a été explorée comme un moyen de purge in vitro des cellules tumorales mais les résultats obtenus ne sont guère convaincants. En ce qui concerne les allogreffes de moelle, il existe un effet allogénique antitumoral indéniable, in vivo comme in vitro. Cependant l'âge médian de survenue de la maladie ne leur laisse pour l'instant qu'une place modeste car leur conditionnement est très toxique. L'évaluation de greffes à conditionnement atténué est en cours.

Plusieurs modèles de vaccination antitumorale et de thérapie cellulaire sont explorés au laboratoire (interruption du signal Ras par la farnesyl transférase, perturbation de la croissance sous IL6...) et dans certains essais thérapeutiques en cours.

Les traitements spécifiques de l'anémie par transfusion ou érythropoïétine, des infections, des douleurs osseuses, de l'hypercalcémie par bisphosphonates et hyperdiurèse alcaline voire d'une compression médullaire ou d'une insuffisance rénale s'articulent avec les thérapeutiques cytolytiques.

Il est cependant nécessaire de considérer à part le rôle des bisphosphonates en tant qu'inhibiteurs de la résorption osseuse ostéoclastique. Au cours d'études contrôlées, le pamidronate associé à une chimiothérapie a montré une réduction significative des complications osseuses et des douleurs correspondantes, et pourrait allonger l'espérance de survie. Les molécules de 3e génération comme le zolédronate sont encore plus prometteuses.

V.4 MALADIE DE WALDENSTRÖM

La macroglobulinémie de Waldenström est un variant du lymphome lymphocytaire ou lymphoplasmocytaire dans lequel les cellules néoplasiques synthétisent de grandes quantités d'IgM monoclonale. Dans cette situation, le patient est susceptible, à côté du syndrome tumoral classique, de développer des signes cliniques directement liés à cette IgM soit par son aspect quantitatif (syndrome d'hyperviscosité) soit du fait de son activité immunologique qu'elle soit dirigée contre des autoantigènes du système nerveux ou qu'elle ait les caractéristiques d'une agglutinine froide ou d'une cryoglobuline. Ces complications peuvent être inaugurales et se voir en général avant que le diagnostic de MW soit possible, donc dans des IgM apparemment primitives.

Les troubles hémorragiques sont liés à la présence des IgM à la surface plaquettaire, entravant l'hémostase primaire. L'hémodilution est responsable d'une anémie régulièrement surévaluée. Il y a exceptionnellement un syndrome osseux.

L'activité antiprotéine de myéline est responsable de paresthésies distales des quatre membres, prédominant le plus souvent aux membres inférieurs, extrêmement gênantes et accompagnées au cours de l'évolution de signes sensitifs superficiels et profonds voire moteurs. Une régression partielle sous l'effet du traitement est possible si celui-ci a été suffisamment précoce.

VI BIBLIOGRAPHIE

Alexanian R, Goeken JA, Keren DF, Kyle RA, Tomar RH, Gorevic PD. Monoclonal Guidelines Panel. : <http://www.dokkyomed.ac.jp/dep-k/cli-path/aaa-super/ppframe.htm>

VII ANNEXES

BIBLIOGRAPHIE

- Alexanian R, Goeken JA, Keren DF, Kyle RA, Tomar RH, Gorevic PD. : Monoclonal Guidelines Panel.