

**MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE**

**Soutenu devant le Jury interrégional
Le 5 JUIN 2008**

Par Melle GUERIN Anne-Sophie

Conformément aux dispositions du décret
du 23 janvier 2003 tient lieu de :

**THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Etude rétrospective sur les gammopathies monoclonales dépistées à Nantes depuis 25 ans (cohorte de 7500 patients)

Président du jury: M. Jean-Marie BARD, Professeur de Biochimie - Pharmacie

Membres du jury :

M. Philippe MOREAU, Professeur d'Hématologie clinique - Médecine

M. Patrick LUSTENBERGER, Professeur de Biochimie - Médecine

Mme Laurence LODE, Praticien Hospitalier - Hématologie

M. Didier LE CARRER, Praticien Hospitalier - Biochimie (Directeur de thèse)

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	1
INDEX DES ILLUSTRATIONS	2
I) GENERALITES	4
A - Généralités cliniques	5
A -1 Gammapathies monoclonales malignes	5
A-1-1 Le myélome multiple	5
A-1-2 La macroglobulinémie de Waldenström	8
A-1-3 L'amylose AL	10
A-1-4 La maladie des chaînes lourdes	11
a - maladie des chaînes lourdes α ou lymphome méditerranéen	11
b - maladie des chaînes lourdes γ	12
c - maladie des chaînes lourdes μ	12
A-1-5 Les autres hémopathies	13
A - 2 MGUS	13
A-2-1 Définition – Epidémiologie	13
A-2-2 Facteurs de risque de progression	14
A-2-3 Les pathologies associées	15
A-2-4 Variants de MGUS	15
B - Généralités biologiques	16
B - 1 Rappels sur les immunoglobulines	16
B-1-1 Structure de base	16
B - 2 Dosages protéiques	17
B - 3 Techniques électrophorétiques	17
B-3-1 Technique manuelle sur acétate de cellulose	18
B-3-2 Technique automatisée sur acétate de cellulose	19
B-3-3 Technique semi-automatisée sur gel d'agarose	19
B-3-4 Electrophorèse capillaire	21
B - 4 Dosage immunochimique	25

B - 5 Etude du rapport κ totales / λ totales.....	26
B - 6 Analyse immunochimique.....	26
B-6-1 L'immunoélectrophorèse	26
B-6-2 L'immunofixation	28
B-6-3 L'immuno-soustraction.....	30
B-6-4 Conclusion	32
B - 7 Dosage des chaînes légères libres	32
II) MATERIEL ET METHODE	34
A - Supports analytiques	34
A - 1 Les patients	34
A - 2 Les étapes d'investigations biologiques.....	34
A - 3 Fichier informatique.....	37
A - 4 Logiciel d'exploitation complémentaire	37
B - Démarche technique.....	38
B - 1 Conversion des fichiers sous format Excel	38
B - 2 Recherches des données manquantes	39
B - 3 Les limites du fichier.....	39
III) RESULTATS	41
A - Présentation des données	41
B - Répartition selon la classe et le type d'immunoglobuline.....	41
C - Répartition selon l'âge et le sexe.....	43
C - 1 Selon l'âge.....	43
C - 2 Selon le sexe.....	46
D - Répartition selon les services cliniques	47
IV) DISCUSSION.....	51
A - Répartition selon la classe d'immunoglobuline	51
A - 1 Comparatif nantais	51
A - 2 Comparaison avec les autres études.....	52
B - Répartition selon le type d'immunoglobuline	57
C - Répartition selon le sexe et l'âge.....	58
C - 1 Le sexe-ratio	58

C - 2 L'âge.....	59
D - Répartition en fonction des services prescripteurs.....	1
D - 1 Médecine et Hématologie	63
D - 2 Hépatogastroentérologie	63
D - 3 Néphrologie.....	66
D - 4 Cardiologie.....	69
D - 5 Rhumatologie, Neurologie, Dermatologie	69
CONCLUSION	72
ANNEXE	73
BIBLIOGRAPHIE	76

LISTE DES ABREVIATIONS

GM : Gammapathie Monoclonale
Ig : Immunoglobuline(s)
IgMc : Immunoglobuline(s) Monoclonale(s)
MM : Myélome Multiple
MW : Maladie de Waldenström
PR : Polyarthrite Rhumatoïde
LED : Lupus Erythémateux Disséminé
IEP : Immunoélectrophorèse
IF : Immunofixation
IT : Immunotypage
IS : Immunosoustraction
CRP : C-Reactive Protein
LDH : Lactate Déshydrogénase
PBJ : Protéine de Bence-Jones
CDT : Carbohyrate Deficient Transferrin
LNH : Lymphome Non Hodgkinien
CM : Cryoglobulinémie Mixte
IPP : Identification Patient
LCDD: Light Chain Deposition Disease
HCDD: Heavy Chain Deposition Disease
CLL : Chaînes Légères Libres
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
VHC : Virus de l'Hépatite C
CMV : Cytomégalovirus
EBV : Epstein Barr Virus

INDEX DES ILLUSTRATIONS

Figures

Figure 1 : Schéma d'une immunoglobuline complète	16
Figure 2 : Exemple d'un gel d'agarose complet.....	20
Figure 3 : Exemple d'un tracé électrophorétique après intégration.....	20
Figure 4 : Exemple d'un résultat sur Capillarys, IgMc en zone Gamma.....	22
Figure 5 : Exemples de profils de GM sur Capillarys.....	23
Figure 6 : Exemple d'une Plaque IEP, IgG Kappa monoclonale	27
Figure 7 : Exemple d'une IF urinaire.....	29
Figure 8 : Exemple d'une IT, IgG Kappa monoclonale	31

Tableaux

Tableau 1 : Anomalies biologiques et fréquence.	9
Tableau 2 : Répartition des GM selon la classe d'Ig	41
Tableau 3 : Répartition des profils en fonction de l'âge	45
Tableau 4 : Présentation de la répartition des anomalies monoclonales en fonction des services cliniques.....	50
Tableau 5 : Comparatif sur la distribution des différentes classes d'IgMc (en France).....	53
Tableau 6 : Comparatif sur la distribution des différentes classes d'IgMc (à l'étranger)	54

Graphiques

Graphique 1 : Répartition des GM en fonction de la classe d'Ig	42
Graphique 2 : Répartition des GM selon le type d'Ig.....	43
Graphique 3 : Répartition en trois classes d'âge.....	44
Graphique 4 : Répartition par tranche de 10 années	44
Graphique 5 : Répartition des GM selon le sexe.....	46
Graphique 6 : Répartition H / F par tranches d'âge	47
Graphique 7 : Les principaux services prescripteurs	48
Graphique 8 : Comparaison des profils entre 1991 et 2006	51
Graphique 9 : Comparaison de la répartition des classes d'âge entre 1991 et 2006.....	59
Graphique 10 : Répartition du nombre de GM par âge, étude comparative	60

Le terme de gammapathie monoclonale (GM) rassemble un nombre de pathologies très diverses, à la fois malignes et bénignes.

Elle est définie par la prolifération d'un clone de cellules lymphocytaires de type B, produisant une immunoglobuline monoclonale (IgMc) caractérisée par un seul type de chaîne légère et un seul type de chaîne lourde (Kyle and Greipp 1978).

Cette immunoglobuline (Ig) peut être sécrétée de façon complète ou incomplète dans le sérum et / ou les urines.

De nombreux contextes physiopathologiques peuvent conduire à l'apparition de cette Ig, avec des conséquences variables au niveau de l'expression clinique.

La biologie, et plus particulièrement la biochimie, tient un rôle majeur dans le dépistage et le diagnostic de ces affections. En effet, les différentes techniques électrophorétiques utilisées sont un outil important dans la mise en évidence, et plus récemment dans le typage des Ig monoclonales.

Depuis plus de vingt cinq ans, le laboratoire de biochimie spécialisée crée un dossier spécifique pour chaque patient présentant une anomalie monoclonale. De plus, en 2000, il a été mis en place un registre informatisé de ces dossiers.

Ainsi, on a pu recenser fin 2006 une cohorte de l'ordre de 7500 patients, originaires en majorité de la région des Pays de la Loire. Ce fichier constitue donc une base de données intéressante, notamment par son étendue et l'hétérogénéité des patients dépistés.

L'objectif de cette thèse a porté sur l'exploitation de ces données biologiques, afin d'établir des profils de répartition des IgMc dans notre région, et de les comparer par la suite à d'autres études françaises et étrangères.

Etant donné l'importance du fichier et la difficulté à recueillir le diagnostic clinique de chaque patient, nous sommes orientés essentiellement sur la caractérisation biologique des GM.

Le mémoire s'articule autour de quatre axes : une première partie de généralités clinico-biologiques, une deuxième partie plus technique sur les matériels et méthodes utilisés, une troisième partie présentant une synthèse des résultats obtenus et une dernière partie de discussion sur les différents points mis en évidence dans cette analyse.

I) GENERALITES

HISTORIQUE

Il faut remonter au XIX^e siècle pour voir apparaître les premières notions de GM avec la description en 1844 par le Dr. S. Solly, du premier cas de myélome. Ce n'est qu'en 1889, que le Dr. Otto Kalher en fait une description clinique détaillée et lui donne le nom éponyme de maladie de Kahler. Parallèlement, le Dr. Henry Bence Jones met en évidence en 1848, une protéine anormale dans les urines d'un patient atteint de myélome. Il décrit un sédiment urinaire capable de se dissoudre à chaud et de re-précipiter à froid.

Plus tard, en 1944, le Dr. Jan Gösta Waldenström décrit une nouvelle maladie caractérisée par la sécrétion d'une protéine anormale, la macroglobulinémie ou maladie de Waldenström.

Le développement des techniques de biologie au cours du XX^e siècle (notamment le myélogramme et l'électrophorèse), va permettre d'améliorer considérablement la caractérisation et le diagnostic de ces affections.

Enfin, les années 1960-1970 voient l'émergence de nouvelles molécules à visée immunosuppressive, qui sont à la base des chimiothérapies actuelles (Revue de la Maladie et des options thérapeutiques, IMF, 2003).

La classification des GM a donné lieu à de nombreuses réflexions depuis les années 1970.

Kyle s'appuie sur des critères biologiques (Kyle 1978) : plasmocytose et taux d'IgMc, alors que Peltier se base davantage sur une description clinique des IgMc, comme étant associées ou non à une maladie immunoproliférative maligne (Peltier 1974).

Dans cette étude, nous nous baserons sur la classification de Kyle (Kyle 1994), qui définit deux groupes distincts : les GM malignes et les GM bénignes, aussi appelées MGUS (*monoclonal gammopathy of undetermined significance*) par les anglosaxons.

A - Généralités cliniques

A - 1 GM malignes

Cet ensemble de pathologies, définies par une prolifération lymphocytaire à caractère tumoral, se présente sous des tableaux cliniques très différents selon le type et la concentration de l'Ig synthétisée.

A-1-1 Le myélome multiple

Définition - Epidémiologie

Le myélome multiple (MM), ou maladie de Kahler, est une hémopathie maligne caractérisée par la prolifération d'un clone de plasmocytes tumoraux dans la moelle osseuse.

Il représente 1 à 2% des cancers et un peu plus de 10% des hémopathies malignes dans la population caucasienne (Dispenzieri and Kyle 2005). Les études menées aux Etats-Unis montrent par ailleurs une incidence de 4,5 cas pour 100 000 habitants, ce qui correspond en France à environ 3 000 nouveaux cas par an. La fréquence de la maladie augmente avec l'âge.

Selon les études, l'âge médian de diagnostic se situe entre 60 (Greipp, San Miguel et al. 2005) et 71 ans (Dispenzieri and Kyle 2005), avec un ratio homme-femme de 3/2.

Clinique

Les symptômes du myélome multiple associent des signes généraux tels que la fièvre, la fatigue, une anémie, une insuffisance rénale, la présence d'infections, une perte de poids, à des signes plus pathognomoniques tels que des douleurs osseuses, des fractures spontanées, des paresthésies.

Biologie

Deux paramètres majeurs sont à prendre en compte : la plasmocytose médullaire et la présence d'une IgMc.

D'après les statistiques, on met en évidence dans 97% des cas, un composant monoclonal dans le sang ou l'urine. Les résultats d'une étude internationale menée entre 1981 et 2002 sur 10750 patients (Greipp, San Miguel et al. 2005), sur la répartition des IgMc, retrouve 60% d'IgG, 24% d' IgA, 11% de chaînes légères libres, 3% d'IgD et 2% de profils biclonaux. Par ailleurs, cette découverte s'accompagne fréquemment d'une baisse des autres classes d'Ig.

Le myélome à IgE reste très rare, tout comme celui à IgM (moins de 1%).
Notons enfin qu'il existe environ 3% de myélomes dits « non sécrétant » pour lesquels aucun composant monoclonal n'est retrouvé.

Sur le reste du bilan biologique, on pourra constater également, une diminution de l'hémoglobine (< 12 g/dL), ainsi qu'une augmentation de la créatininémie (> 170 μ mol/L) et de la calcémie (> 2.75 mmol/L).

Critères diagnostiques

D'après *The international myeloma working group definition of multiple myelome* réuni en 2003, le diagnostic de myélome multiple symptomatique repose sur deux critères biologiques et un critère clinique :

**Ig Mc dans le sérum et / ou les urines
+ plasmocytose médullaire
+ une anomalie organique**

Sous le terme « d'anomalie organique », on distingue :

- L'hypercalcémie
- L'insuffisance rénale
- L'anémie
- Les lésions lytiques osseuses, l'ostéoporose ou les fractures
- Autres : hyperviscosité, amylose, infections bactériennes récurrentes

En outre, il est important de différencier le myélome multiple actif, de la notion de « smoldering multiple myeloma » qui est le versant asymptomatique du MM et qui est défini comme suit :

**Ig Mc dans le sérum ≥ 30 g/L
et / ou plasmocytose médullaire $\geq 10\%$**

D'autres variants moins connus du myélome multiple ont également été décrits : la leucémie à plasmocytes, le plasmocytome extramédullaire ou le plasmocytome solitaire osseux.

Facteurs pronostiques

Le pronostic du myélome multiple est globalement péjoratif avec une médiane de survie autour de trois à cinq ans. Néanmoins il existe une certaine variabilité dans ces données, puisque certains patients décéderont en quelques mois et d'autres plus de dix ans après la date de diagnostic (San Miguel and Garcia-Sanz 2005).

Cette hétérogénéité résulte de l'existence de plusieurs facteurs pronostiques qui sont :

- les facteurs liés à l'hôte (âge, réponse au traitement, fonction rénale)
- les facteurs liés à la malignité intrinsèque de la tumeur (anomalies chromosomiques, morphologie des plasmocytes ...)
- les facteurs biologiques liés à la masse tumorale ($\beta 2$ microglobulinémie, albuminémie, créatininémie, LDH, CRP, calcémie)

La classification historique de Durie et Salmon datant de 1975, basée sur la masse tumorale, est encore largement utilisée. Cependant, de nouveaux critères sont envisagés afin de classer plus simplement et plus efficacement les patients dans des groupes pronostiques.

Ainsi, un récent système de classification a été proposé (Greipp, San Miguel et al. 2005) : il est défini par la mesure de l'International Pronostic Index (IPI) qui détermine trois stades de la maladie en fonction des valeurs de deux paramètres biologiques, que sont la $\beta 2$ microglobulinémie et l'albuminémie.

A-1-2 La macroglobulinémie de Waldenström

Définition - Epidémiologie

La maladie de Waldenström (MW) résulte de la prolifération d'un clone malin de lymphocyte, produisant une IgMc de type IgM (Dimopoulos and Anagnostopoulos 2005). Selon le système de classification de l'OMS, elle correspond à un lymphome lympho-plasmocytaire, caractérisé par des infiltrations de lymphocytes à différents stades de maturation allant du petit lymphocyte au plasmocyte (Vijay and Gertz 2007).

Elle représente 1 à 2% des hémopathies malignes. L'incidence est nettement plus élevée dans la population caucasienne que dans la population noire qui ne représente que 5% de l'ensemble des patients (Vijay and Gertz 2007). Elle croît avec l'âge. L'âge médian de survenue de la maladie se situe entre 63 et 68 ans, avec une prédominance masculine de l'ordre de 55 à 70%.

La maladie de Waldenström, tout comme le myélome multiple, reste incurable, avec une médiane de survie autour de cinq ans.

Clinique

Les manifestations cliniques sont directement reliées à l'infiltration cellulaire et aux caractéristiques de l'IgMc sécrétée.

Les symptômes les plus communs sont l'asthénie, l'anémie, la perte de poids et la fièvre. Dans 15 à 30% des cas, on retrouve une hépato-splénomégalie et une lymphadénopathie. On rapporte également des signes de neuropathies périphériques dus à l'hyperviscosité sanguine présente chez 10 à 30% des patients, ainsi que la présence, moins fréquente, d'un syndrome de Raynaud, d'un purpura ou d'une amylose AL (Dimopoulos and Anagnostopoulos 2005).

Biologie

Le principal paramètre biologique pathognomonique de la maladie de Waldenström est la présence, quasi constante dans le sang d'une IgM monoclonale. Dans près de 35% des cas, sa concentration est supérieure à 30 g/L (Gertz, Merlini et al. 2004).

En plus du caractère monoclonal de l'Ig synthétisée, cette IgM peut parfois se comporter comme une cryoglobuline, précipitant à froid et se re-dissolvant à 37°C. Ce phénomène est observé chez 10 à 20% des patients, mais seulement 5% d'entre eux présentent des manifestations cliniques (Dimopoulos and Anagnostopoulos 2005).

Le frottis sanguin permet, lui, de mettre en évidence des hématies en rouleaux, assez typiques de cette maladie.

Les autres perturbations biologiques sont résumées dans le tableau suivant :

Paramètres	Fréquence en%
Hémoglobine < 12 g/dL	63
Plaquettes < 100 000 / μ L	17
Leucocytes < 4000 / μ L	4
Protéinurie de Bence Jones	38
β 2 microglobulinémie > 3 mg/L	62
Viscosité sérique > 4 centiPoise	17

Tableau 1: Anomalies biologiques et fréquence (Gertz, Merlini et al. 2004).

Critères diagnostiques et pronostiques

Le diagnostic de la maladie de Waldenström repose sur la mise en évidence d'une IgM monoclonale et d'une infiltration de la moelle osseuse par de petits lymphocytes en cours de différenciation plasmocytaire. L'immunophénotypage des lymphocytes par cytométrie en flux et / ou par immunohistochimie permet de confirmer le diagnostic (Vijay and Gertz 2007).

Les facteurs de mauvais pronostic, présentés par Morel et al en 2006 à la société américaine d'hématologie, sont :

- âge > 65 ans
- β 2 microglobulinémie > 3 mg/L
- concentration IgM > 70 g/L
- hémoglobine < 11.5 g/dL
- plaquettes < 100 000 / μ L

A-1-3 L'amylose AL

Définition - Epidémiologie

L'amylose AL ou amylose primitive est une GM caractérisée par la production excessive de chaînes légères monoclonales qui ont la particularité de résister à la protéolyse et de former des dépôts de protéines insolubles au niveau d'organes, entraînant ainsi leur dysfonctionnement. Les plus touchés sont le cœur, les reins, le foie et le système nerveux périphérique (Gertz, Merlini et al. 2004).

L'amylose AL peut apparaître isolément ou en association avec d'autres GM telles le myélome multiple ou les MGUS (Muller, Geibel et al. 2006). Et contrairement au myélome multiple, ce sont des chaînes légères lambda qui sont majoritairement retrouvées (2/3 des cas).

Cette affection est cinq fois moins fréquente que le myélome multiple, avec une incidence de 8 cas pour 1 000 000 d'habitants (Gertz, Merlini et al. 2004).

L'âge médian de survenue de la maladie se situe autour de 64 ans et la durée moyenne de survie est de quatorze mois (Kyle 1994).

Clinique

Les symptômes sont peu évocateurs de la pathologie, les plus fréquents étant une fatigue, une perte de poids, des oedèmes. Des paresthésies, une perte de mémoire, des malaises, une macroglossie, une dyspnée et un purpura facial sont également décrits.

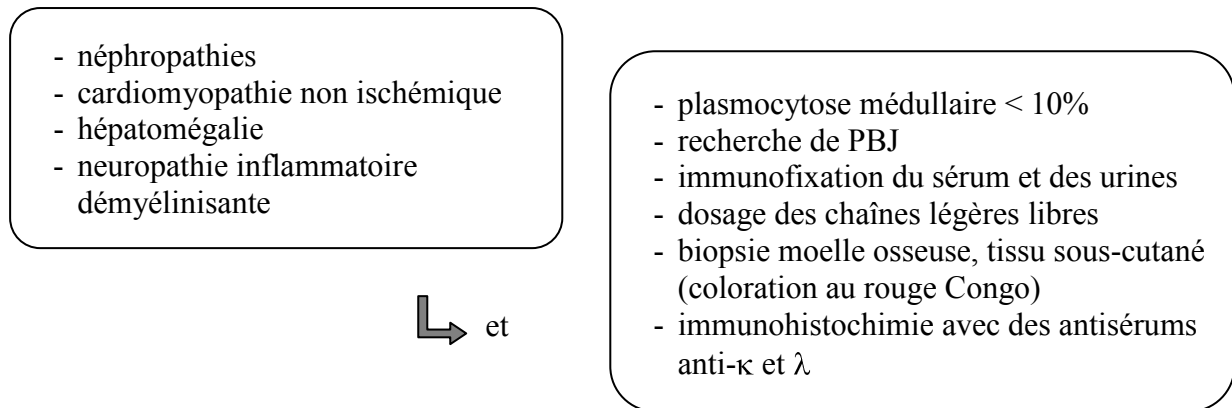
Par ailleurs, l'infiltration et le dépôt de ces chaînes légères au niveau des organes cités, ont pour conséquence à terme le développement d'atteintes rénales, de cardiomyopathies, de neuropathies périphériques ou d'hépatosplénomégalias (Gertz, Merlini et al. 2004). Notons qu'entre l'apparition des premiers symptômes et l'établissement du diagnostic, il s'écoule en général deux ans.

Diagnostic - Pronostic

Le diagnostic de l'amylose primitive est comme nous l'avons dit, parfois difficile et tardif, reposant davantage sur des critères d'exclusion d'autres pathologies.

Il repose sur un ensemble de manifestations cliniques, comme les dysfonctionnements d'organes majeurs, et d'anomalies biologiques et / ou histochimiques.

Le tableau ci-dessous résume les principaux éléments du diagnostic (Gertz, Merlini et al. 2004) :



Les patients atteints d'amylose AL décèdent principalement de complications cardiaques liées aux dépôts amyloïdes extracellulaires (cardiomyopathie congestive, fibrillation ventriculaire). Les facteurs pronostiques sont donc essentiellement des marqueurs cardiaques tels que la troponine T et le NT-Pro BNP ainsi que la β_2 microglobulinémie ; un suivi échographique du cœur est par ailleurs indispensable.

A-1-4 La maladie des chaînes lourdes

C'est un syndrome lymphoprolifératif de type B, rare, caractérisé par la production d'une Ig monoclonale incomplète car dépourvue de chaîne légère. Trois classes d'Ig ont été décrites à ce jour : les chaînes lourdes gamma, alpha et mu (Wahner-Roedler, Witzig et al. 2003).

a - Maladie des chaînes lourdes α ou lymphome méditerranéen

C'est la plus fréquente des trois, avec près de 400 cas répertoriés depuis 1968 (Wahner-Roedler, Witzig et al. 2003). La majorité des patients, principalement de jeunes adultes entre 20 et 30 ans, est originaire du Moyen-Orient et du pourtour méditerranéen, même si l'on retrouve des cas partout dans le monde.

La maladie se manifeste sous deux formes principales :

- la forme gastro-intestinale, la plus commune, caractérisée par une malabsorption sévère entraînant une perte de poids importante, des diarrhées et une stéatorrhée.
- la forme respiratoire qui est beaucoup plus rare

Biologiquement, on retrouve dans 50% des cas une bande anormale à l'électrophorèse des protéines sériques (en région α_2 ou β), le diagnostic reposant sur la caractérisation de ce composant monoclonal. La moelle osseuse est normale.

b - Maladie des chaînes lourdes γ

Depuis 1964, environ 120 cas ont été décrits dans la littérature (Wahner-Roedler and Kyle 2005). L'âge médian de diagnostic se situe autour de 65 ans, avec une prédominance de femmes.

Cette maladie peut se manifester sous trois formes différentes :

- un syndrome lymphoprolifératif disséminé avec une lymphadénopathie, une hépatosplénomégalie.
- un syndrome lymphoprolifératif localisé, à la moelle osseuse, ou extra médullaire (infiltration cutanée, thyroïdienne ou oropharyngée).
- présence de désordres auto-immuns (polyarthrite rhumatoïde, lupus, thyroïdite, myasthénie).

Une bande monoclonale est détectée dans 60 à 86% des cas, son typage permet d'établir le diagnostic. La moelle osseuse présente parfois une infiltration lymphoplasmocytaire ; une anémie normocytaire, normochrome est fréquemment retrouvée.

Précisons que les chaînes lourdes alpha et gamma peuvent se retrouver dans les urines.

c - Maladie des chaînes lourdes μ

C'est une maladie extrêmement rare puisque seuls 33 cas ont été décrits depuis 1969 (Wahner-Roedler and Kyle 2005). Elle se manifeste par un syndrome lymphoprolifératif, souvent peu différentiable d'une leucémie lymphoïde chronique ou d'un lymphome.

Un pic monoclonal est retrouvé dans près de 40% des cas ; notons par ailleurs qu'une protéinurie de Bence-Jones est également présente dans plus de 50% des cas, contrairement aux deux autres classes de chaînes lourdes où elle est absente. Enfin, chez la plupart des patients, on constate une augmentation des cellules lymphocytaires et plasmocytaires dans la moelle osseuse.

A-1-5 Les autres hémopathies

Il existe de nombreuses autres affections malignes au cours desquelles un pic monoclonal, qu'il soit de nature IgG, IgM ou IgA, peut être découvert.

Sans entrer dans les détails, nous pouvons citer notamment : la leucémie lymphoïde chronique, les lymphomes non hodgkiniens, la leucémie myélomonocytaire chronique, ainsi que certaines myélodysplasies.

A - 2 MGUS

A-2-1 Définition - Epidémiologie

Les GM de signification indéterminée (GMSI), anciennement appelées gammopathies bénignes, regroupent un ensemble de pathologies assez diverses qui ont comme caractères communs :

- la présence d'un composant monoclonal sérique à une concentration < 30 g/L si IgG et concentration < 10 g/L si IgM ou IgA
- une plasmocytose médullaire < 10%
- l'absence de signes cliniques relatifs à un syndrome lymphoprolifératif (anémie, hypercalcémie, insuffisance rénale, adénopathies, splénomégalie, atteinte osseuse, neurologique).

Le composant monoclonal est dans 70% des cas une IgG, 15% des cas une IgM, 12% des cas une IgA et 3% des cas un profil biclonal (Kyle and Rajkumar 2005).

D'après les données de la Mayo clinique aux Etats-Unis, les MGUS représentent presque 60% des GM (Kyle and Rajkumar 2005).

Elles sont majoritairement découvertes chez le sujet de plus de 50 ans avec un âge médian de diagnostic se situant autour de 70 ans (Blade 2006). La prévalence augmente avec l'âge comme le démontrent les différentes études menées aux Etats-Unis (Kyle, Finkelstein et al. 1972), (Kyle, Therneau et al. 2006), en Italie (Aguzzi, Bergami et al. 1992) et en Suède (Axelsson, Bachmann et al. 1966), puisque les MGUS touchent environ 3% des personnes de plus de 50 ans et 5,3% des plus de 70 ans, alors qu'on dénombre à peine 2% de patients de moins de 40 ans.

Par ailleurs, bien que dites bénignes, ces GM peuvent évoluer à terme vers une gammapathie maligne avec un taux de progression de l'ordre de 1% par an (Kyle, Therneau et al. 2006). C'est pourquoi il est important de les dépister et de les suivre périodiquement en fonction de l'âge du patient et du contexte clinique associé.

A-2-2 Facteurs de risque de progression

Kyle (Kyle and Rajkumar 2006) met en avant 4 principaux paramètres biologiques impliqués dans l'évolution péjorative des MGUS :

- **le type d'Ig**

La présence d'une IgA ou d'une IgM serait associée à un plus grand risque de développement d'une gammapathie maligne qu'une IgG (Blade, Lopez-Guillermo et al. 1992).

- **la concentration de l'Ig**

Au dessus de 15 g/L, le risque de progression est multiplié par 2, et par 4.6 pour des concentrations supérieures à 25 g/L par rapport à une valeur de 5 g/L.

- **la plasmocytose médullaire**

Selon Cesana, nous pouvons retenir un taux de plus de 5% de plasmocytes comme facteur de risque (Cesana, Klersy et al. 2002)

- **les chaînes légères libres**

Un rapport de chaînes légères libres dans le sérum perturbé, serait un nouveau marqueur de mauvais pronostic (Rajkumar, Kyle et al. 2004).

A-2-3 Les pathologies associées

Les MGUS peuvent être associées à des situations cliniques très variées allant de simples infections virales à des hémopathies malignes. Les tableaux ci-dessous résument les pathologies les plus souvent rencontrées :

- maladies auto-immunes :
LED, PR, syndrome de Gougerot-Sjögren, thyroïdites
- neuropathies périphériques,
POEMS syndrom
- maladies dermatologiques

- infections bactériennes
(urinaires) ou virales :
EBV, CMV, HIV,
hépatites
- cryoglobulinémies mixtes

- maladie de Gaucher
- néphropathies
- cirrhose

- leucémie myélomonocy-
- taire
- cancers épithéliaux
- greffés (moelle osseuse,
foie, rein)

Ces GM secondaires sont généralement transitoires et disparaissent avec la résolution de l'affection en cause. Néanmoins, il est toujours recommandé d'effectuer un suivi biologique afin de suivre l'évolution du pic monoclonal.

A-2-4 Variants de MGUS

Il existe un dernier groupe d'anomalies monoclonales qui émergent ces dernières années et qu'il est parfois difficile de classer, ce sont les gammopathies biclonales et oligoclonales.

Les profils biclonaux qui se traduisent à l'électrophorèse par la présence de deux pics monoclonaux, sont liés à la synthèse de deux IgMc par deux clones cellulaires indépendants (Ducasse 1991). Selon les données de cette étude menée sur 64 observations, environ 30% des anomalies sont bénignes et 70% ont un lien avec une de ces affections : le cancer, la MW, les leucémies, les lymphomes non hodgkiniens, le MM et dans les cas de greffes.

Notons qu'il faut bien différencier deux IgMc distinctes, d'une IgMc présente sous plusieurs degrés de polymérisation.

Les profils oligoclonaux, avec plus de deux pics monoclonaux, sont fréquemment rencontrés chez les patients immunodéprimés, notamment au cours d'infections virales (VIH,

VHC), en post-greffe d'organes ou de moelle osseuse et dans certaines maladies auto-immunes (Le Carrer 1994).

B - Généralités biologiques

B - 1 Rappels sur les immunoglobulines

B-1-1 Structure de base

Les Ig sont des glycoprotéines composées de 4 monomères identiques deux à deux : deux chaînes lourdes (de type γ , μ , α , δ et ϵ) et deux chaînes légères (de type λ et κ) reliées entre elles par des ponts disulfures. Chaque chaîne est constituée d'une partie constante C terminale et d'une partie variable N terminale supportant l'activité anticorps. Il en existe cinq classes différentes : IgG, IgM, IgA, IgD et IgE.

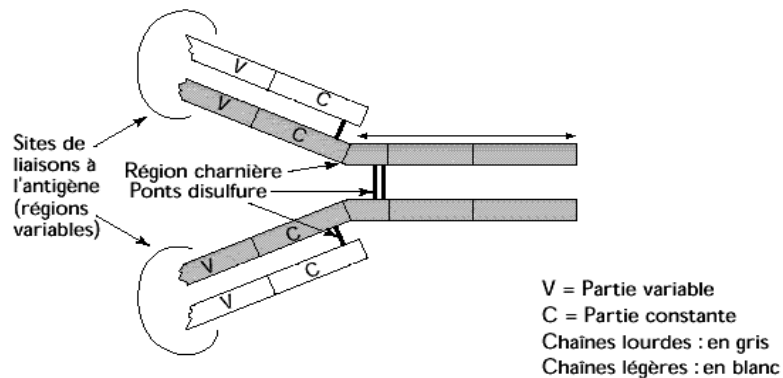
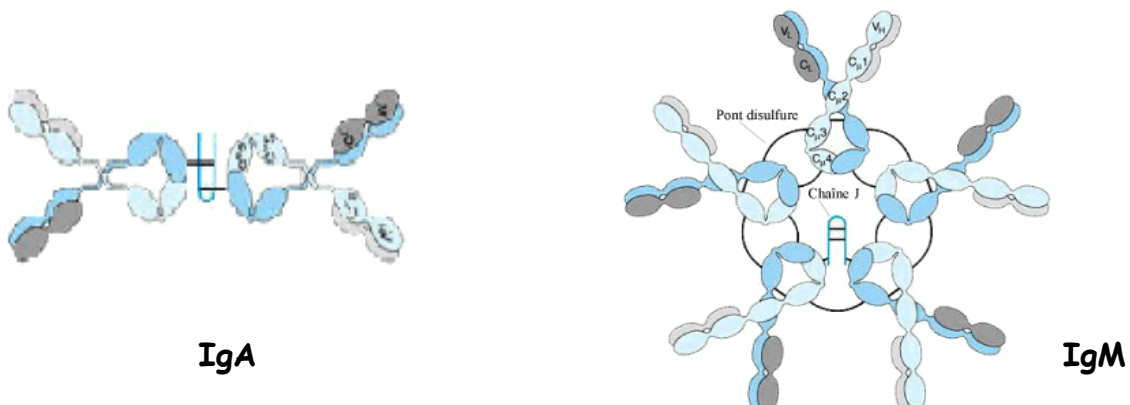


Figure 1 : Schéma d'une immunoglobuline complète

Notons que les IgG, IgD et IgE sont exclusivement monomériques dans le sérum contrairement aux IgA et IgM qui peuvent former des dimères et des polymères :



B-1-2 Les immunoglobulines monoclonales

Synthétisées par un seul clone de lymphocytes B, les IgMc sont définies par trois caractères :

- l'identité structurale : elles ne possèdent qu'un seul type de chaîne lourde et un seul type de chaîne légère.
- l'identité de charge électrique : la mobilité électrophorétique est homogène d'où la visualisation à l'électrophorèse d'un pic monoclonal fin et étroit.
- l'identité immunologique : toutes les IgMc possèdent les mêmes déterminants iso, allo et idiotypiques, donc la même activité anticorps.

B - 2 Dosages protéiques

La détermination de la protidémie est essentielle à l'exploration plus approfondie d'une anomalie monoclonale. Dans le sang, les protéines totales sont dosées par la méthode au Biuret : les ions cuivriques réagissent en milieu alcalin, avec les liaisons peptidiques des protéines pour former un complexe bleu violet mesurable par colorimétrie à 540 nm. Pour l'électrophorèse, on utilise une mesure réalisée à partir d'un tube sec (sans anticoagulant) ; les valeurs de référence du laboratoire sont comprises entre 65 et 80 g/L.

La mesure de la protéinurie se fait à partir d'urines centrifugées, par la technique au rouge de pyrogallol. Le complexe formé en milieu acide par le colorant, les ions molybdates et les groupements aminés des protéines, est mesuré par colorimétrie à 600 nm. Les valeurs physiologiques se situent en dessous de 0,15 g / 24 h.

Comme dans toute méthode colorimétrique, il faut être vigilant sur certaines interférences telles que la présence d'hémoglobine ou la lactescence pouvant gêner le dosage.

B - 3 Techniques électrophorétiques

Au cours de ces 25 dernières années, les techniques électrophorétiques ont considérablement évolué en termes de support, de rapidité et de sensibilité. Le fichier de suivi des GM mis en place au laboratoire comprend des patients diagnostiqués dès 1980, d'où l'intérêt d'évoquer ici les différentes techniques qui ont pu être utilisées au laboratoire de biochimie spécialisée depuis cette date.

Rappelons que l'électrophorèse est une technique ancienne qui remonte à la fin du XIX^e siècle ; c'est le suédois Arne Tiselius, prix Nobel de chimie en 1948, qui le premier réussit à séparer les protéines contenues dans des milieux complexes tels que le sérum ou le lait. Cette technique de séparation est fondée sur la propriété des molécules de poids moléculaire et de charge électrique différents, à migrer différemment lorsqu'elles sont soumises à un champ électrique.

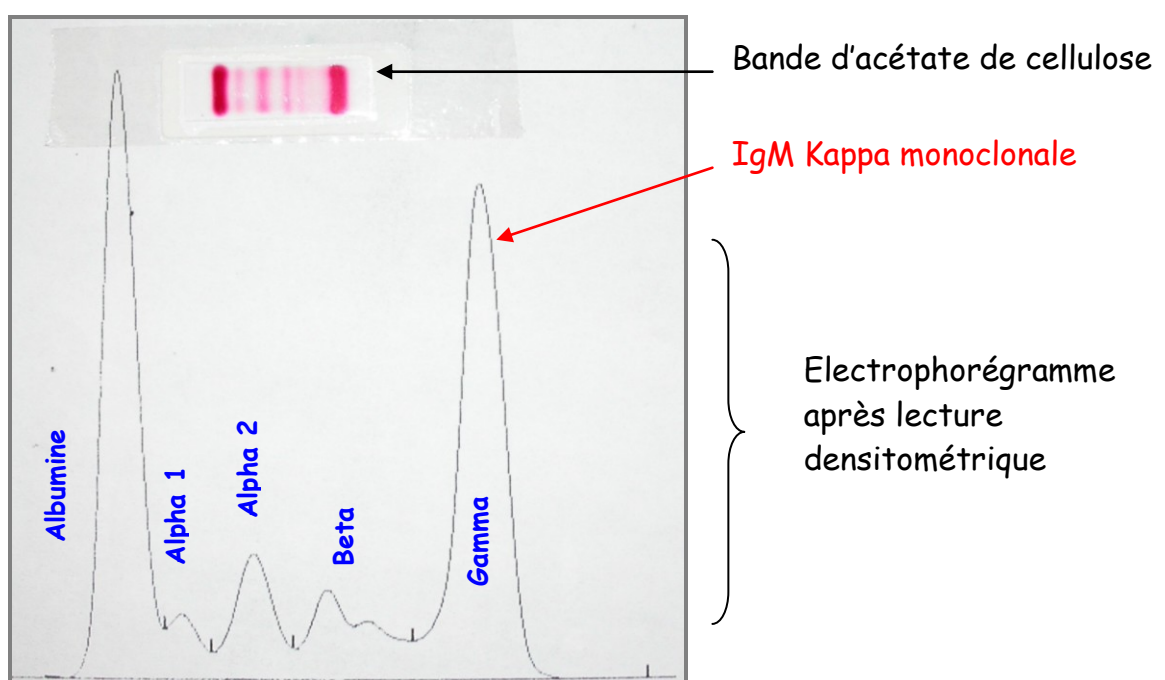
C'est l'examen de première intention demandé dans l'exploration d'une anomalie monoclonale. Il existe de nombreuses méthodes de réalisation de cette technique ; au laboratoire de Nantes, on distingue ainsi trois grandes étapes depuis 1980.

B-3-1 Technique manuelle sur acétate de cellulose

Initialement réalisées sur papier, les électrophorèses ont progressivement vu leur qualité s'améliorer après l'apparition dans les années 1980, de supports nettement plus résolutifs comme l'acétate de cellulose (Kohn 1957) utilisée au laboratoire jusqu'en 1997.

Les premières techniques sont manuelles et font appel à un matériel simple basé sur l'utilisation d'une cuve de migration et de différents bacs permettant la coloration et le lavage du support. Les bandes obtenues après coloration au rouge Ponceau sont ensuite intégrées sur un densitomètre Cellosystem 2 (Sebia) pour l'obtention du tracé électrophorétique.

Cette technique très chronophage permettait de traiter environ une centaine d'échantillons de sérums par jour.



B-3-2 Technique automatisée sur acétate de cellulose

En 1989, le laboratoire se dote d'un automate, l'Hite System 310[®] (Olympus) permettant de réaliser les étapes de coloration et de lecture densitométrique. On conserve l'acétate de cellulose comme support mais sous la forme de plaques plus grandes puisque l'on passe de 4 à 15 puits par gel. Tout ceci permet alors l'analyse de 50 échantillons à l'heure, offrant donc un gain de temps et de personnel.

B-3-3 Technique semi-automatisée sur gel d'agarose

En 1997, l'appareillage est complètement modifié puisque l'acétate de cellulose est remplacé par un support en gel d'agarose et que l'analyse, semi-automatisée, est réalisée sur un nouvel automate, l'Hydrasys[®] (Sebia) :



Le gel dispose de 30 puits utilisables en totalité ou en partie sous forme de demi-plaque ; la coloration est effectuée par l'amidoschwartz, qui est connu pour être plus sensible que le rouge ponceau, notamment dans la détection des faibles gammopathies.

L'automate, quant à lui, est constitué de deux compartiments : l'un thermo régulé pour la partie de migration et l'autre pour l'étape de coloration ; le gel doit être transféré de l'un à l'autre manuellement. Il permet de réaliser également les électrophorèses de l'hémoglobine, ainsi que l'immunofixation des protéines. La lecture par densitométrie se fait sur l'Hyryst[®] (Sebia). Cet outil permet une amélioration de la sensibilité de l'électrophorèse avec l'obtention pour la première fois de fractions $\beta 1$ et $\beta 2$ bien individualisées (figure 2 et 3).

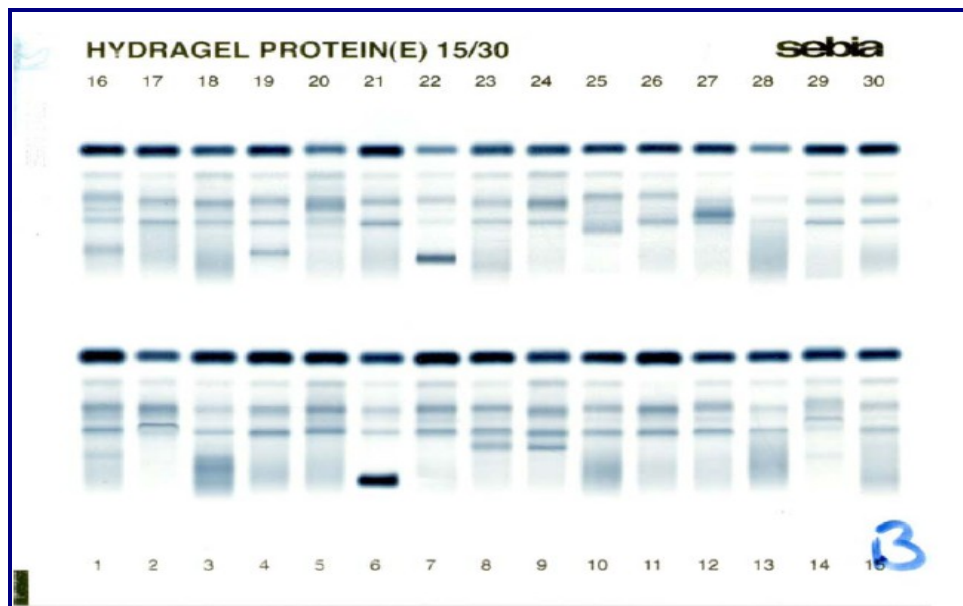


Figure 2 : Exemple d'un gel d'agarose complet

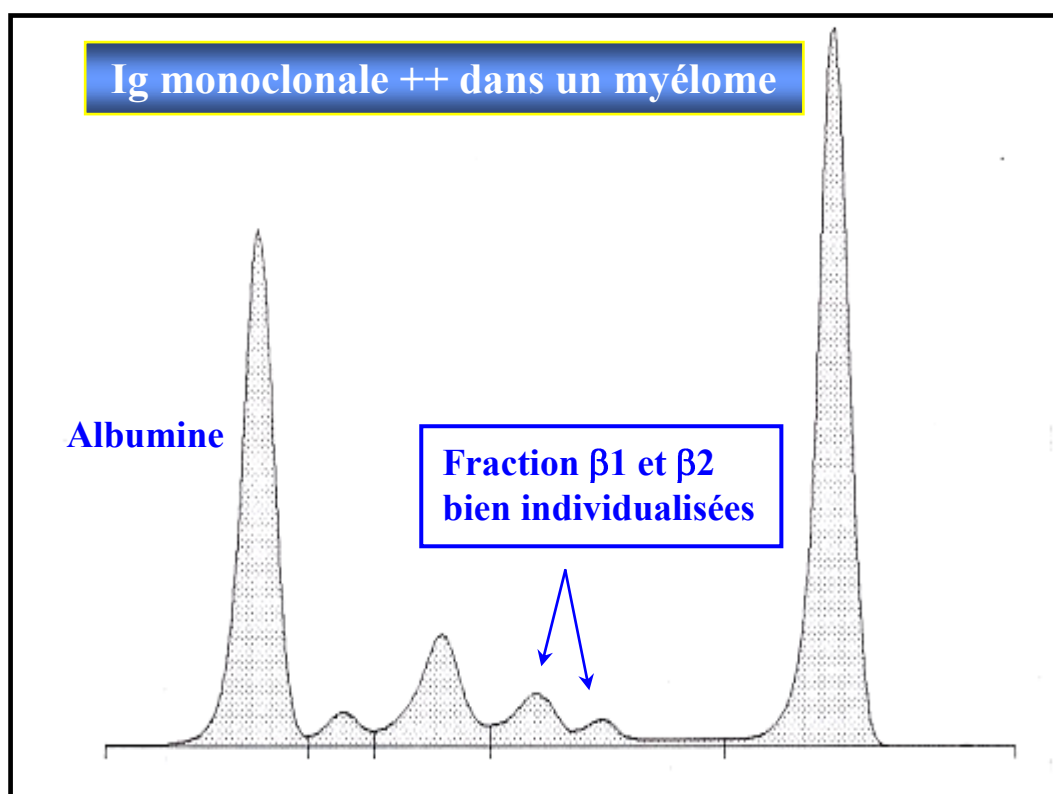


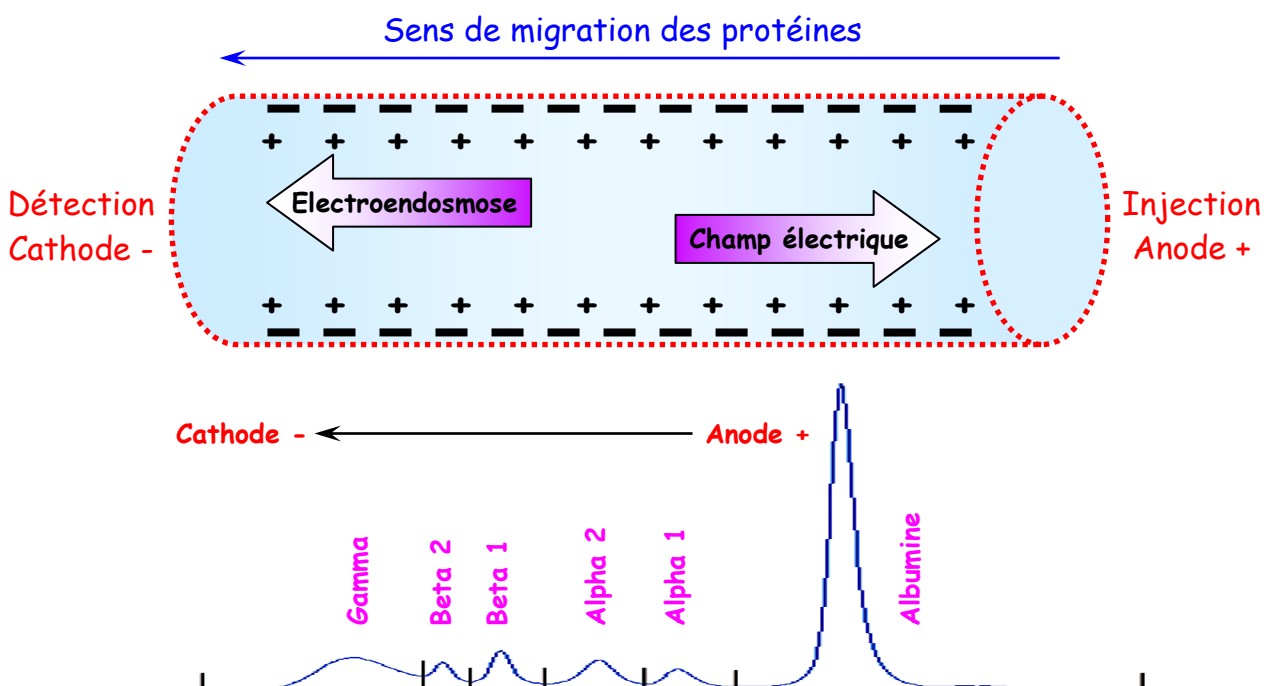
Figure 3 : Exemple d'un tracé électrophorétique après intégration densitométrique du gel

B-3-4 Electrophorèse capillaire

L'année 2002 marque un tournant au laboratoire de biochimie avec la mise en place de l'électrophorèse capillaire, technique basée sur l'utilisation de fins capillaires de silice comme support de séparation des protéines. L'automate choisi est le Capillarys[®]1 (Sebia) offrant un ensemble innovant de 8 capillaires installés en parallèle.



Le système analytique se présente donc sous la forme d'un tube de faible diamètre (25 μ m) à l'intérieur duquel circule un fort courant d'électroendosmose induit par la différence de potentiel générée par les charges positives de la solution tampon et les charges négatives des parois en silice. L'association du courant électrolytique interne et de la forte tension électrique externe (9000 volts), induit la migration des protéines de l'anode (+) vers la cathode (-). La mesure se fait en sortie du capillaire par spectrophotométrie UV à une longueur d'onde de 200 nm ; un logiciel permet ensuite la reconstitution des courbes sous forme de protéinogramme.



Cette méthode présente de nombreux avantages en comparaison des électrophorèses réalisées sur gel. Tout d'abord, c'est une technique complètement automatisée (Jolliff and Blessum 1997) qui fonctionne en vase clos, du prélèvement de l'échantillon jusqu'à l'émission du tracé électrophorétique. Ensuite, c'est un système rapide effectuant 100 tests à l'heure avec la possibilité d'une alimentation en continu des échantillons. Le système de lecture par code barre permet en outre de diminuer les erreurs d'identification des tubes. Enfin, la résolution des pics est améliorée, tout comme la sensibilité (0,20 g/L), ce qui affine nettement la détection des composés monoclonaux (Yang, Harrison et al. 2007).

Il existe néanmoins certaines limites à cette technique. La présence d'artéfacts comme les produits de contraste iodés peuvent gêner la lecture du tracé électrophorétique. De plus, l'électrophorèse capillaire seule n'est pas un bon outil pour le dépistage et / ou le suivi de certains myélomes à chaînes légères et amyloses AL.

Des méthodes complémentaires d'exploration doivent dans tous les cas accompagner ce premier examen pour le diagnostic d'une GM.

Précisons que nous travaillons maintenant sur une deuxième version du Capillarys, qui permet de réaliser à la fois les analyses du sérum, mais aussi des urines, de l'hémoglobine et de la transferrine désialylée, CDT (filtres adaptés à différentes longueurs d'onde).

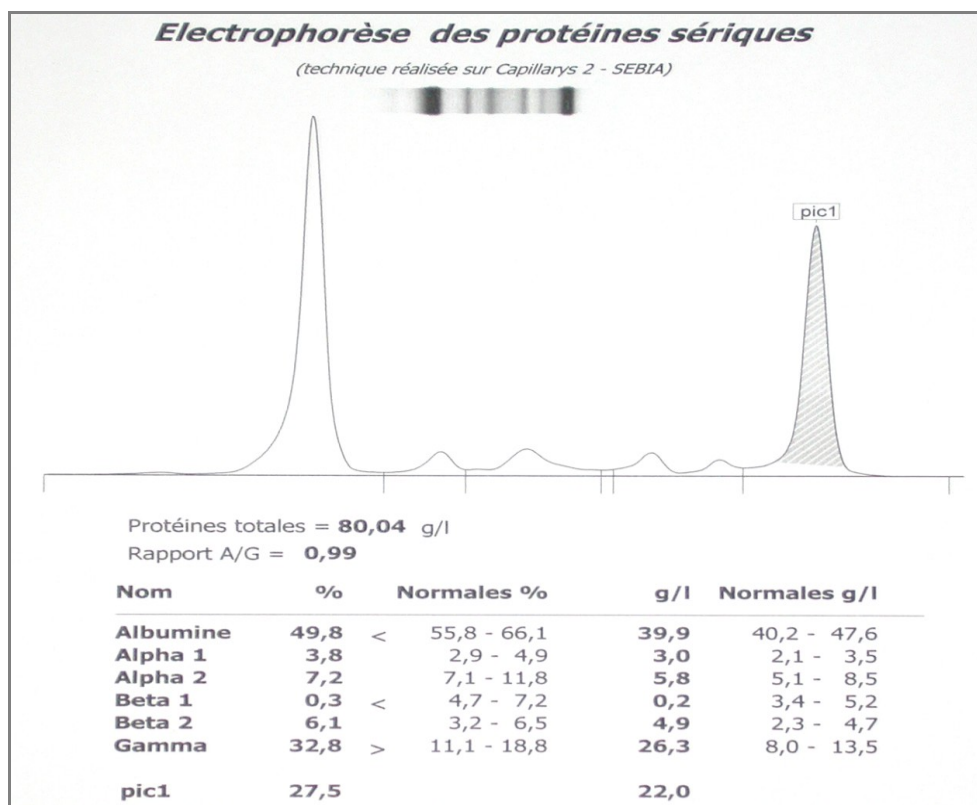
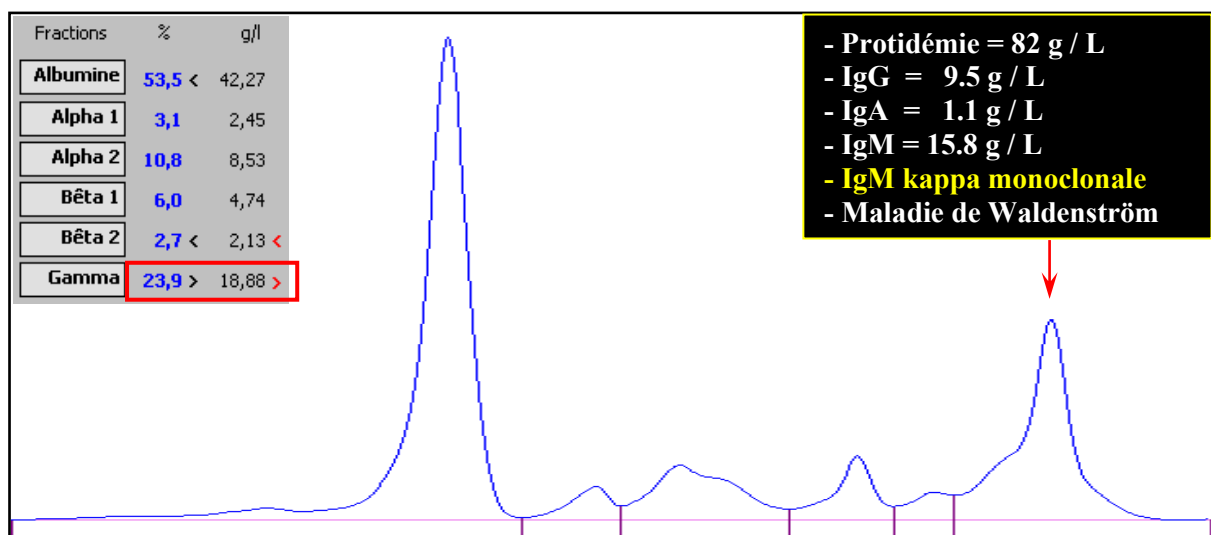
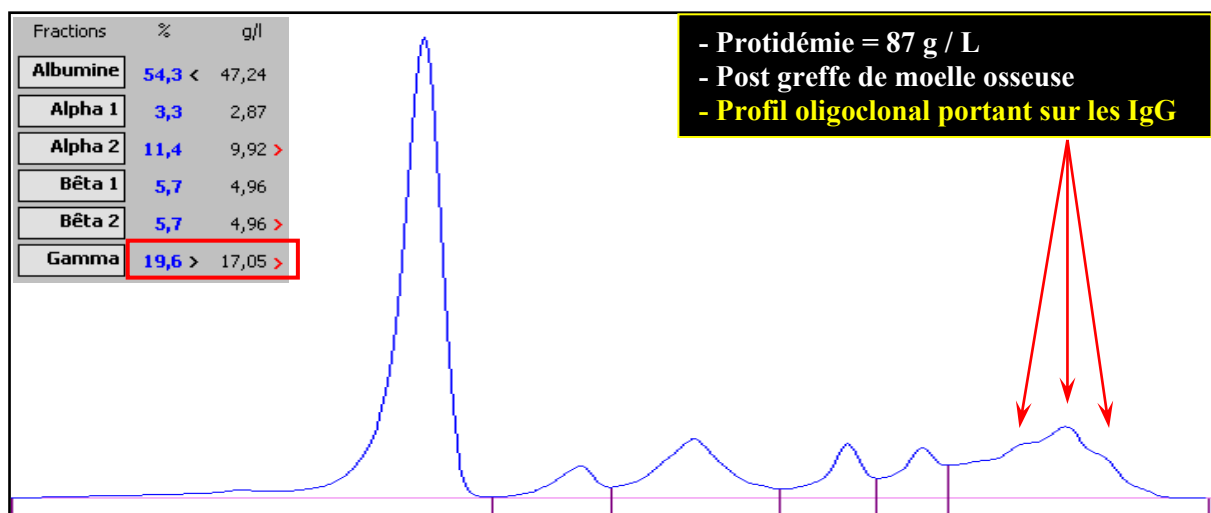
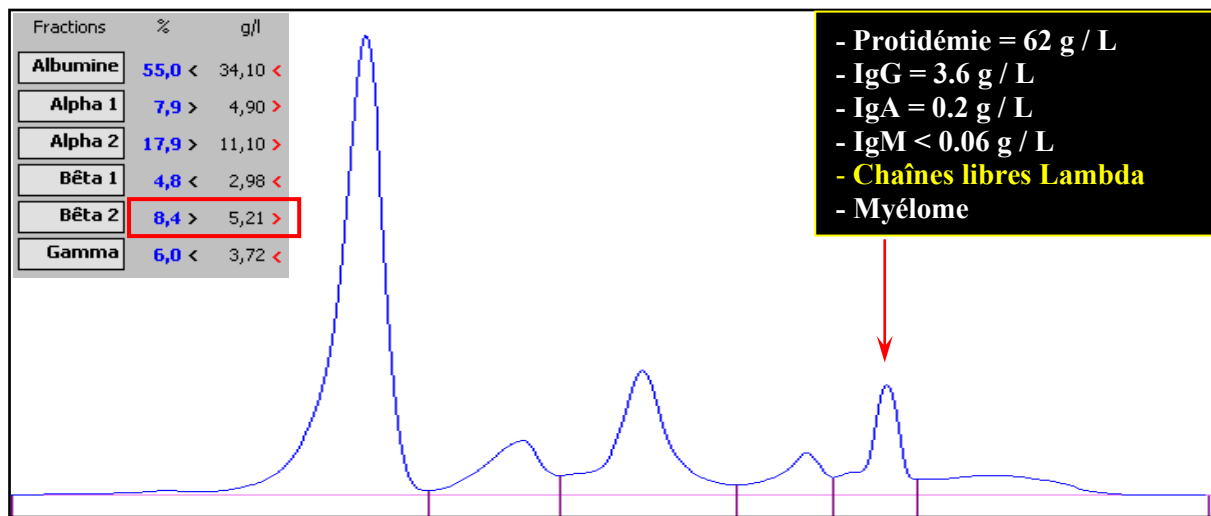


Figure 4 : Exemple d'un résultat sur Capillarys®, IgMc en zone Gamma

Figure 5 : Exemples de profils de GM sur Capillarys®

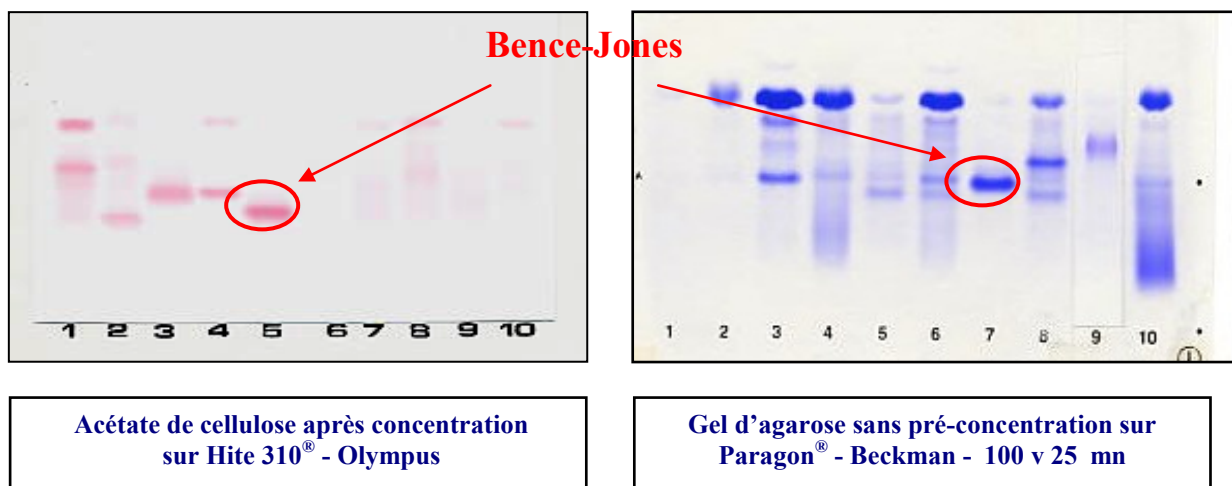


B-3-5 Electrophorèse urinaire

Cet examen biologique doit être réalisé en parallèle de l'électrophorèse des protéines du sérum, essentiellement dans le but de détecter une PBJ.

Bien qu'elles aient moins évolué que les techniques sur sérum, les techniques d'électrophorèses urinaires ont connu quelques modifications au cours de ces 25 dernières années. Avant 1992, les urines subissent une étape de pré-concentration longue et onéreuse. Au début l'électrophorèse sur acétate de cellulose est réalisée manuellement, puis elle est automatisée en 1989 sur un appareillage identique à celui utilisé pour le sérum.

Après 1992, l'étape de pré-concentration est supprimée et le support est remplacé par un gel d'agarose Paragon® (Beckman). Le gel comporte alors 10 pistes de migration, ce qui permet par exemple le passage de 9 échantillons et d'un contrôle positif contenant les différentes fractions protéiques.



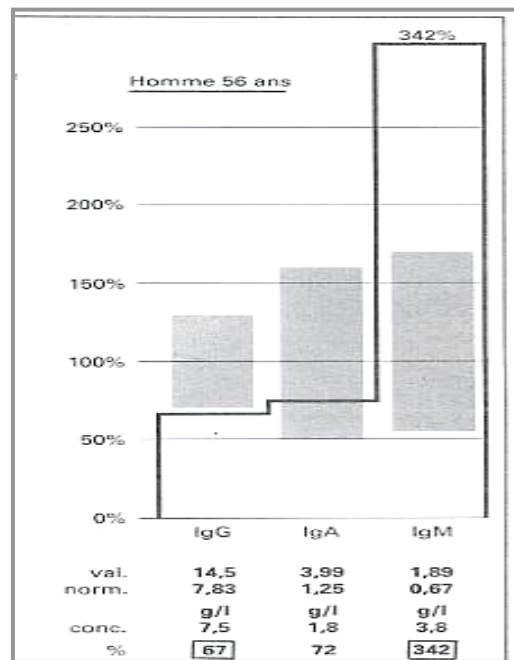
Cette technique, bien que manuelle, permet un typage assez précis de la protéinurie et une recherche de la PBJ avec un seuil de détection de l'ordre de 15 mg/L à 20 mg/L pour les chaînes légères totales comme pour toutes les protéines. Par ailleurs, en fonction de l'atteinte rénale, on pourra observer la présence de l'IgMc complète.

Néanmoins, l'interprétation n'est pas toujours aisée et nécessite une certaine expérience. En effet, les chaînes légères libres peuvent, selon leur degré de polymérisation, migrer dans une zone allant des α_2 aux γ globulines ce qui rend parfois difficile leur mise en évidence ; l'intensité de la bande peut également varier selon la quantité excrétée. Une IF de contrôle s'avère souvent obligatoire.

Cette méthode, avec coloration au violet acide, est toujours utilisée au laboratoire.

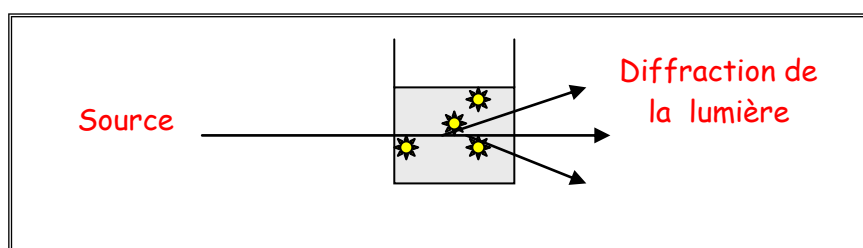
B - 4 Dosage immunochimique

Le dosage « pondéral » des différentes classes d'Ig dans le sérum (G, A, M) doit généralement accompagner l'électrophorèse des protéines en cas d'anomalie monoclonale détectée. Il concourt à l'établissement du Profil Protéique Ciblé Immunitaire (PPCI) qui est une représentation graphique des dosages sériques simultanés de plusieurs protéines, exprimés en pourcentage en fonction de l'âge et du sexe du patient.



Profil montrant une augmentation isolée des IgM, avec une diminution des IgG.

Ces dosages sont réalisés au laboratoire depuis le début des années 80. Tout d'abord manuelle, la technique est automatisée assez rapidement devant le nombre croissant d'échantillons. L'immuno-néphélométrie a été choisie dès le début par le laboratoire. Le principe consiste en l'utilisation d'anticorps polyclonaux spécifiquement dirigés contre les Ig humaines à doser ; les complexes immuns formés dans le milieu réactionnel dispersent la lumière produite par une source lumineuse qui émet dans l'IR à 840 nm. L'intensité de la lumière diffractée est alors directement proportionnelle à la concentration de la protéine recherchée :



Comme dans toute méthode immunologique, un des principaux écueils est celui lié à ce qu'on appelle le « phénomène de zone » qui se manifeste en présence de fortes concentrations en substrat (dissociation des complexes immuns et redissolution des précipités) et qui peut conduire à sous estimer la valeur réelle du paramètre. Afin de pallier à ceci, on effectue au préalable une dilution du sérum qui est variable selon le type d'Ig à doser.

De plus, la technique sur le BNII (Dade Behring) utilise des anticorps polyclonaux de lapin qui ne sont pas adaptés au dosage des IgMc, puisqu'ils sont fabriqués pour réagir avec un ensemble homogène de toutes les classes d'Ig.

En conséquence, la quantification par électrophorèse reste la seule méthode valable dans le cadre du suivi d'une Ig monoclonale bien individualisée même si le dosage par néphélométrie reste utile pour évaluer les variations des autres Ig physiologiques.

B - 5 Etude du rapport κ totales / λ totales

Utilisé depuis 1986, le dosage pondéral des chaînes légères, libres et liées, repose sur le même principe que pour les IgG, IgA et IgM. Il permet le calcul du rapport des chaînes κ totales sur les chaînes λ totales. Un rapport élevé oriente vers une IgMc de type Kappa, alors qu'un rapport abaissé évoque une IgMc de type Lambda. Néanmoins, du fait d'un manque de sensibilité, cette technique ne peut pas être utilisée pour le dépistage de toutes les anomalies monoclonales ; son usage doit être restreint aux cas simples, face à une augmentation très significative d'une seule classe d'Ig avec diminution des autres classes.

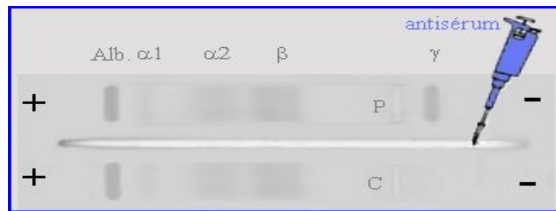
B - 6 Analyse immunochimique

C'est une étape indispensable dans la détermination de la nature du (ou des) composant(s) monoclonal(aux) ; elle doit compléter l'électrophorèse et le dosage pondéral des Ig. Le principe général consiste en la formation de complexes antigènes-anticorps précipitant en milieu solide, et leur mise en évidence se fait soit de façon directe par des techniques de colorations classiques, soit de façon indirecte par un système d'immuno-soustraction.

B-6-1 L'immunoélectrophorèse

Développée dès 1953 par Grabar et Williams, l'immunoélectrophorèse combine électrophorèse en gel d'agarose et immunodiffusion. Le premier temps consiste à faire migrer

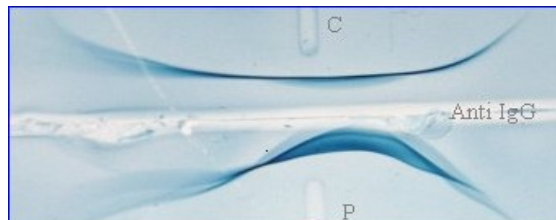
le sérum à analyser dans un puits creusé dans le gel. Les protéines sont ainsi séparées selon leur mobilité électrophorétique. Dans un second temps, on dépose un antisérum polyspécifique ou monospécifique dans un réservoir parallèle au champ de migration.



Ajout de l'antisérum

La diffusion des antigènes et des anticorps les uns vers les autres entraîne alors la formation d'arcs de précipitation révélés par une coloration au bleu de Coomassie.

Cette technique semi-quantitative nécessite l'utilisation d'un sérum témoin en parallèle de l'échantillon patient afin de comparer les arcs obtenus (aspect, position, intensité).



Révélation des arcs

L'immunoélectrophorèse a été largement utilisée au laboratoire durant les années 80 et début 90. Cependant, la lecture et l'interprétation des plaques étaient assez difficiles et requéraient un personnel formé et expérimenté. Elle a été abandonnée en 1995 au profit de l'immunofixation.

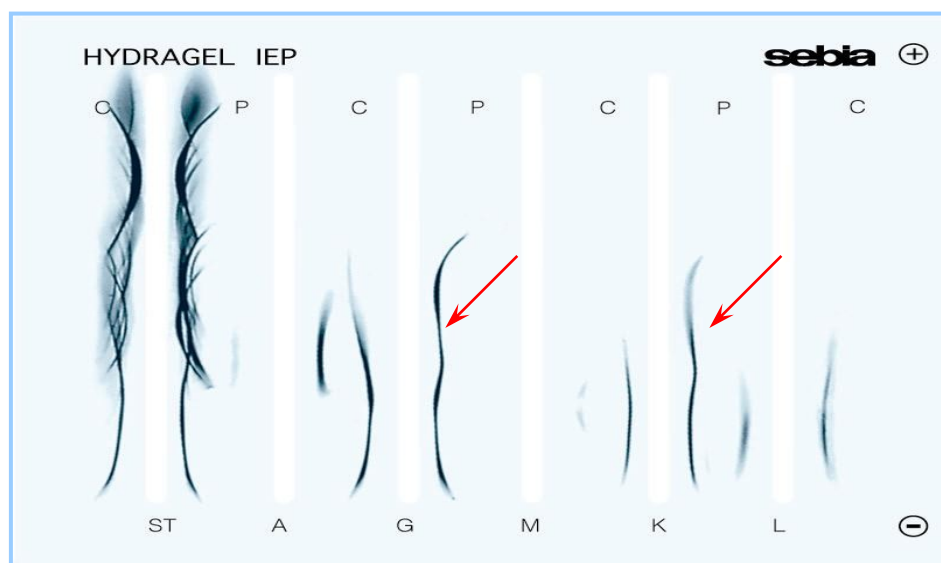


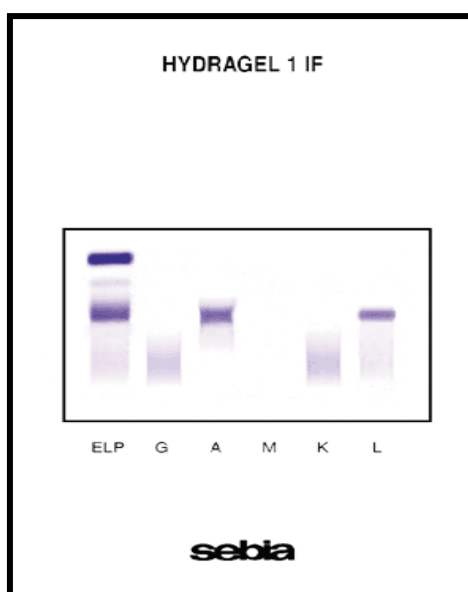
Figure 6 : Exemple d'une Plaque IEP, IgG Kappa monoclonale

B-6-2 L'immunofixation

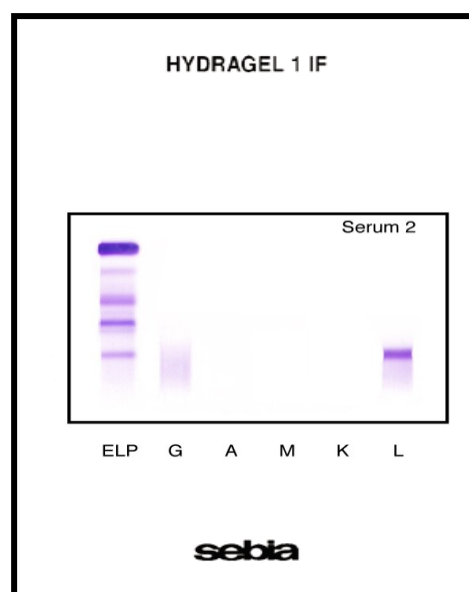
Le principe est assez simple. Après la migration et la séparation des protéines du sérum sur un gel d'agarose (Hydragel® de Sebia) composé de 6 pistes, on applique les différents antisérums monovalents permettant de révéler : les chaînes lourdes γ , μ , α et les chaînes légères (totales) κ , λ ; sur la première piste, qui sert de témoin d'électrophorèse, est appliquée une substance fixant les protéines par précipitation (acide sulfosalicylique). Pendant la phase d'incubation, les anticorps déposés sur le gel vont précipiter les Ig présentes. Après les étapes de lavages et de coloration, on obtient un gel sur lequel on voit apparaître les Ig et l'ensemble des protéines du témoin. La lecture se fait à l'œil nu en comparant les bandes spécifiques obtenues à celles de la piste de référence. On peut ainsi mettre en évidence :

- une Ig monoclonale par la présence d'une bande homogène, étroite et bien individualisée, strictement au même niveau à la fois sur une piste avec un antisérum anti-chaîne lourde et un antisérum anti-chaîne légère.
- des Ig polyclonales qui se manifestent sous la forme de bandes diffuses plus étendues, traduisant l'hétérogénéité normale des Ig.

Dans la majeure partie des cas, on retrouve au même niveau de migration, une bande pour la chaîne lourde et une autre pour la chaîne légère. Mais, si la chaîne légère est la seule révélée, il faudra penser à tester les antisérums anti- δ et anti- ϵ non présents sur les pistes du gel avant de conclure sur le profil de l'immunofixation.



Ig A lambda monoclonale



Bande isolée en lambda
A compléter par un anti-lambda
libre et anti- D et E

Cette technique est largement utilisée actuellement dans les laboratoires pour différentes raisons : elle est plus rapide (1 à 2 heures), elle est en partie automatisable, l'interprétation des résultats est plus aisée, elle offre une meilleure sensibilité (seuil de détection à 0.20 g/L) que l'immunoélectrophorèse (Duc, Morel et al. 1988), et enfin elle permet de caractériser plusieurs Ig monoclonales (profils oligoclonaux) de spécificité de chaînes lourdes ou légères différente migrant au même niveau. Dans ce dernier cas, il est important de ne pas confondre un profil bi ou oligoclonal avec une seule IgMc qui serait polymérisée dans le sang (IgM ou IgA). Afin de différencier l'une ou l'autre des deux situations, on soumet le sérum à un traitement réducteur par du dimercaptoéthanol, qui va agir en coupant les ponts disulfures qui relient les monomères d'Ig. Une nouvelle immunofixation est ensuite réalisée : si l'aspect et le nombre des bandes restent identiques, on pourra confirmer l'existence d'un profil oligoclonal.

En ce qui concerne le typage d'une PBJ, le principe est le même que pour le sérum. L'urine à analyser est déposée sans concentration préalable, dans les 6 puits constituant le gel. La première piste sert de piste témoin et les cinq autres sont mises en contact avec les antisérums suivants : un antisérum trivalent (G, A, M) réagissant avec les chaînes lourdes γ , α , μ des 3 principales classes d'Ig, un anti-kappa libres et liées, un anti-lambda libres et liées, en enfin un anti-kappa et lambda libres.

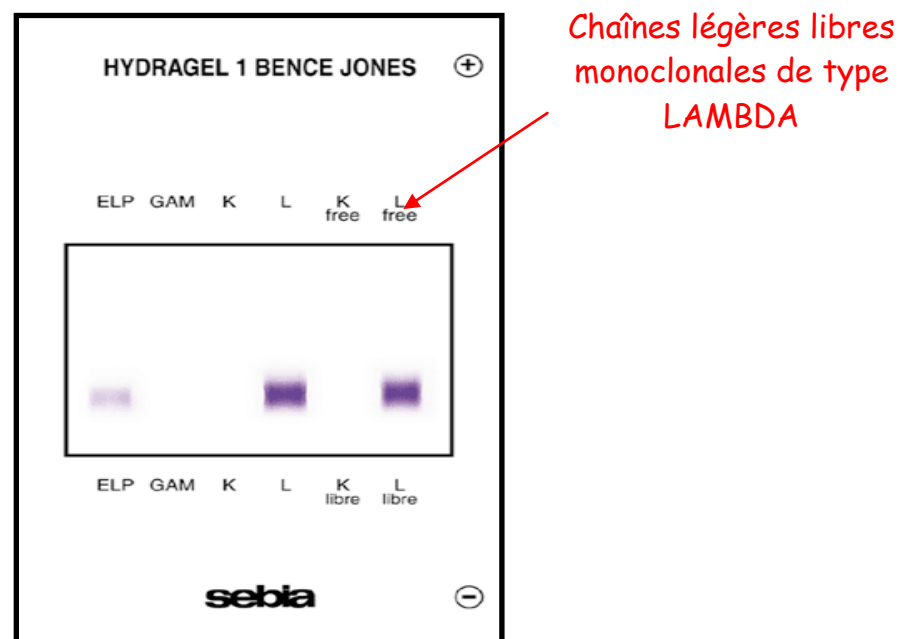


Figure 7 : Exemple d'une IF urinaire

Cette technique est actuellement la plus sensible pour mettre en évidence et identifier la nature d'une protéine de Bence-Jones suspectée à l'électrophorèse. Le seuil de détection se situe autour de 15 à 20 mg/L.

Précisons que l'Ig typée dans le sérum permet en général de présager de la nature de l'Ig complète révélée par l'antisérum trivalent G, A, M.

Enfin, il est important de rappeler que les étapes de préparation des échantillons, notamment de dilution du sérum ou des urines en fonction du taux de protides totaux, sont essentielles à la bonne réalisation de la technique ainsi qu'à l'interprétation du résultat.

B-6-3 L'immuno-soustraction

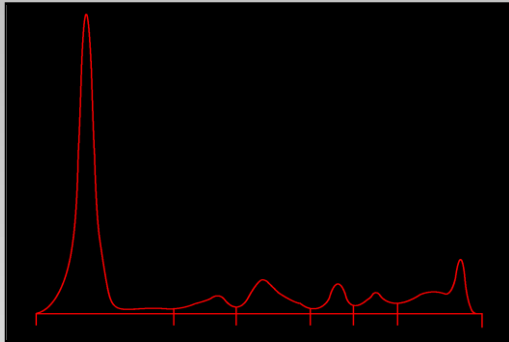
La dernière et plus récente technique mis en place au laboratoire de biochimie pour typer une IgMc, est l'immuno-soustraction ou immunotypage. Cette technique s'est développée grâce à l'émergence de l'électrophorèse capillaire qui est son support direct.

Deux méthodologies existent. La première, celle de Beckman, utilise des billes de sépharose sur lesquelles sont fixés des anticorps spécifiques réagissant respectivement avec les chaînes lourdes γ , μ , α et les chaînes légères κ , λ ; un puits sert de référence. Les complexes antigènes-anticorps précipitent alors au fond des puits par sédimentation, c'est l'immuno-soustraction. Les surnageants sont ensuite prélevés et injectés dans les capillaires où a lieu l'étape classique de séparation électrophorétique (Bossuyt, Bogaerts et al. 1998).

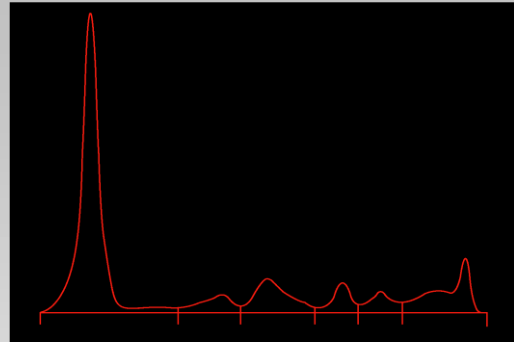
La deuxième, de Sebia, utilise des anticorps en milieu liquide, ce qui présente l'avantage d'obtenir des immun complexes solubles. L'injection dans les capillaires se fait donc plus rapidement, sans étape de sédimentation. Ces complexes ainsi formés, plus lourds que les autres fractions protéiques, vont migrer en avant de l'albumine ne gênant pas la lecture des six tracés d'électrophorèses.

La présence d'une IgMc se traduit par la disparition ou la diminution d'un pic observé en superposant l'électrophorégramme de référence (figure 8 p31).

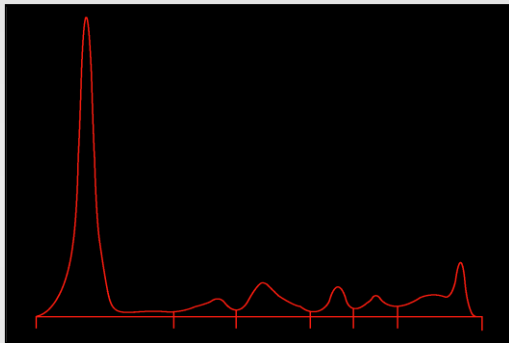
Figure 8 : Exemple d'un IT, IgG Kappa monoclonale



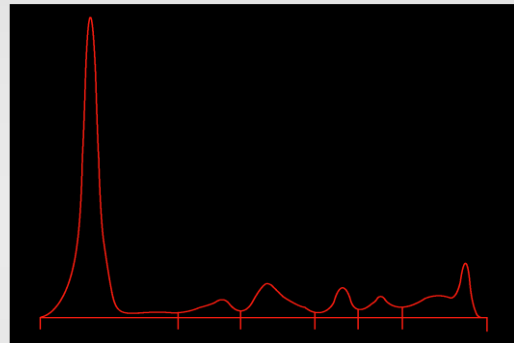
1. Profil témoin



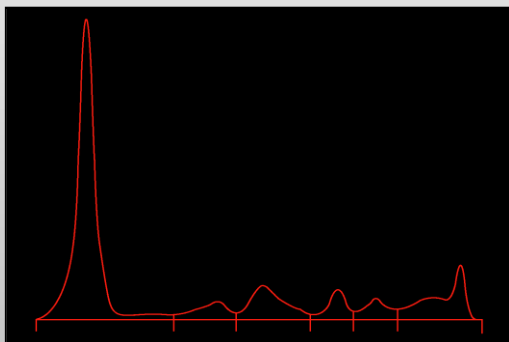
2. Profil avec l'anti- γ



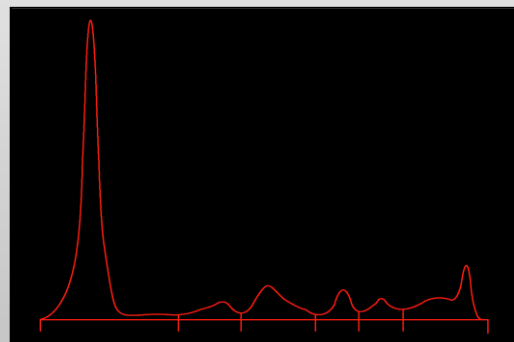
3. Profil avec l'anti- α



4. Profil avec l'anti- μ



5. Profil avec l'anti- κ



6. Profil avec l'anti- λ

Le principal inconvénient de cette méthode est que l'identification d'une IgMc n'est possible qu'en présence d'un pic fin, étroit et bien individualisable à l'électrophorèse. Ainsi, toute IgMc migrant en dehors de la zone gamma et / ou en dehors d'une vallée, peut passer inaperçue.

B-6-4 Conclusion

En résumé, l'immunoélectrophorèse, qui reste une technique de référence pour la recherche d'une IgMc, a été remplacée progressivement par des techniques plus automatisées, donc plus rapides mais aussi plus faciles à interpréter.

Certaines études, dont celle publiée en 2007 par Yang (Yang, Harrison et al. 2007), ont comparé la performance de l'immunofixation face à l'immuno-soustraction. Différents points en ressortent. Il apparaît tout d'abord que ces deux techniques sont simples d'exécution, d'un coût assez comparable et obtiennent des résultats concordant à 86%. Cependant, en terme de délai de réalisation, l'IS est nettement plus rapide que l'IF (10 échantillons à l'heure contre 4 en une heure et demi). Néanmoins, l'IF semble être plus sensible que l'IS dans la détection des IgM et des chaînes légères libres présentes en faible concentration et plus adaptée face à des profils bi ou oligoclonaux.

B - 7 Dosage des chaînes légères libres

Un dernier point technique mérite d'être abordé : le développement actuel des dosages des chaînes légères libres dans le sérum, et leurs impacts dans le diagnostic et / ou le suivi de certaines GM.

Les réactifs commercialisés offrent en effet la possibilité de quantifier les chaînes légères libres κ et λ dans le sérum par néphélométrie. Le kit utilisé au laboratoire est Freelite® (The Binding Site). Il consiste à doser les chaînes légères libres sécrétées en excès par rapport aux chaînes lourdes, en utilisant des anticorps spécifiques fixés sur des particules de latex, qui vont réagir et former des complexes immuns, dont la quantité est directement proportionnelle à l'intensité de la lumière diffractée. Ce dosage permet ensuite de déterminer le ratio κ / λ qui serait un paramètre plus informatif car indépendant des variations physiologiques liées notamment à l'âge (valeurs plus élevées après 80 ans par un déficit d'élimination rénale).

Les différentes études menées sur les performances de ce test ont démontré l'intérêt de son utilisation dans le diagnostic et le suivi des myélomes à chaînes légères (Bradwell, Carr-

Smith et al. 2003), des myélomes non sécrétant (Drayson, Tang et al. 2001), des amyloses primitives (Abraham, Katzmman et al. 2003) et de la maladie des dépôts de chaînes légères (Katzmann, Clark et al. 2002). Ce dosage a l'avantage d'être complètement automatisé, rapide, et dans le cadre bien défini de ces recommandations, serait de 20 à 50 fois plus sensible que l'immunofixation (Bradwell, Carr-Smith et al. 2001). Cependant, on a pu constater des variabilités dans certains résultats, pouvant être liées à : un excès d'antigènes, une hétérogénéité structurale des chaînes légère, des phénomènes de polymérisation, la formation de complexes avec d'autres protéines ou une augmentation polyclonale des Ig. C'est pourquoi, ce test ne peut constituer à lui seul un critère de diagnostic d'une IgMc ; son utilisation doit être limitée à l'exploration des pathologies citées précédemment et il doit toujours être accompagné d'une immunofixation, qui reste le test de référence (Jaskowski, Litwin et al. 2006).

Nous n'avons abordé ici que le versant immunochimique de l'analyse biochimique d'une GM. Il est évident que celui ci constitue la partie la plus importante de l'exploration, mais d'autres paramètres peuvent aussi compléter le bilan.

Sans entrer dans les détails, nous pouvons citer : la vitesse de sédimentation (reflet de l'hyperprotidémie), la CRP (stimulée par IL6), la calcémie, l'urée, la créatinine et sa clairance, la $\beta 2$ microglobuline ou la recherche d'une cryoglobuline (Ig précipitant à froid).

En conclusion, nous pouvons dire qu'il existe de très nombreuses techniques à disposition du biologiste pour l'exploration des GM, et que la démarche diagnostique utilisée est variable d'un laboratoire à l'autre, aucun consensus n'existant à ce jour.

II) MATERIEL ET METHODE

A - Supports analytiques

A - 1 Les patients

Les patients dépistés au CHU de Nantes entre 1976 et 2006 sont originaires pour la grande majorité d'entre eux de la région des Pays de la Loire, principalement de Loire Atlantique, de Vendée et du Maine et Loire, ainsi que du Morbihan.

On peut les séparer en deux groupes : ceux pris en charge suite à l'apparition de signes cliniques évocateurs d'une hémopathie, et ceux pour qui la découverte est fortuite, à l'occasion d'un bilan de routine ou d'un bilan d'extension d'une autre affection.

Dans tous les cas, chaque patient présentant à l'électrophorèse des protéines sériques et / ou urinaire, une anomalie donnant lieu à une exploration complémentaire par les tests cités précédemment, est enregistré par le laboratoire de biochimie sous un dossier nominatif.

A - 2 Les étapes d'investigations biologiques

Il semble intéressant de rappeler ici les différentes étapes d'investigation d'une GM, puisque cela constitue la base analytique de notre travail.

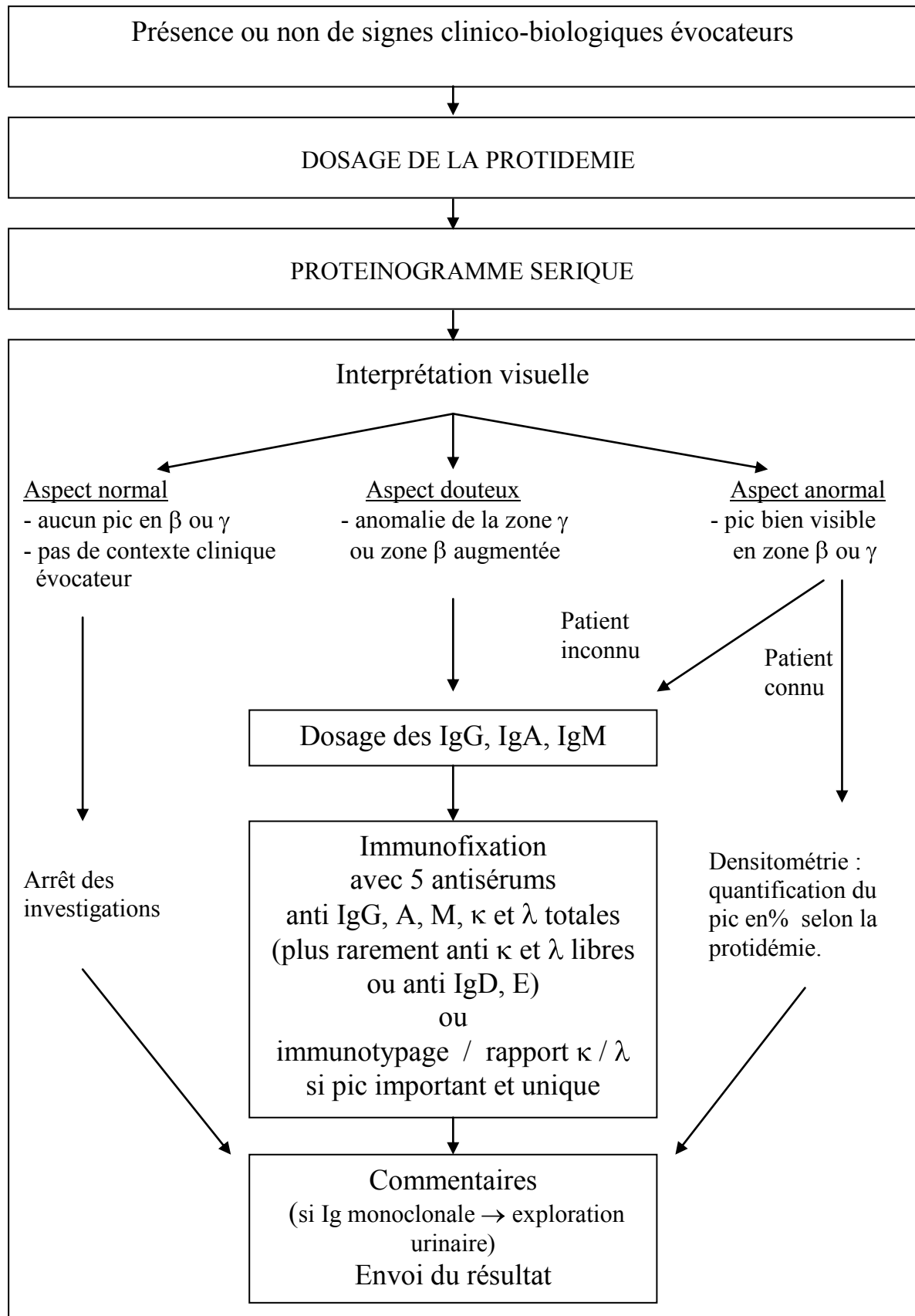
Comme nous l'avons déjà évoqué auparavant, l'exploration biochimique a lieu à la fois dans le sang et dans les urines, avec une démarche très similaire.

Les prélèvements sanguins sont recueillis sur tube sec (sans anticoagulant), subissent une étape de centrifugation puis sont placés sur l'automate d'électrophorèse capillaire qui réalise l'analyse des échantillons en continu. L'interprétation des profils se fait ensuite par le biologiste qui décide alors s'il est nécessaire, d'ajouter une exploration complémentaire.

Le dosage des Ig est effectué le jour même alors que l'immunofixation (technique la plus généralement utilisée) est réalisée le lendemain sur le même prélèvement conservé à 4°C.

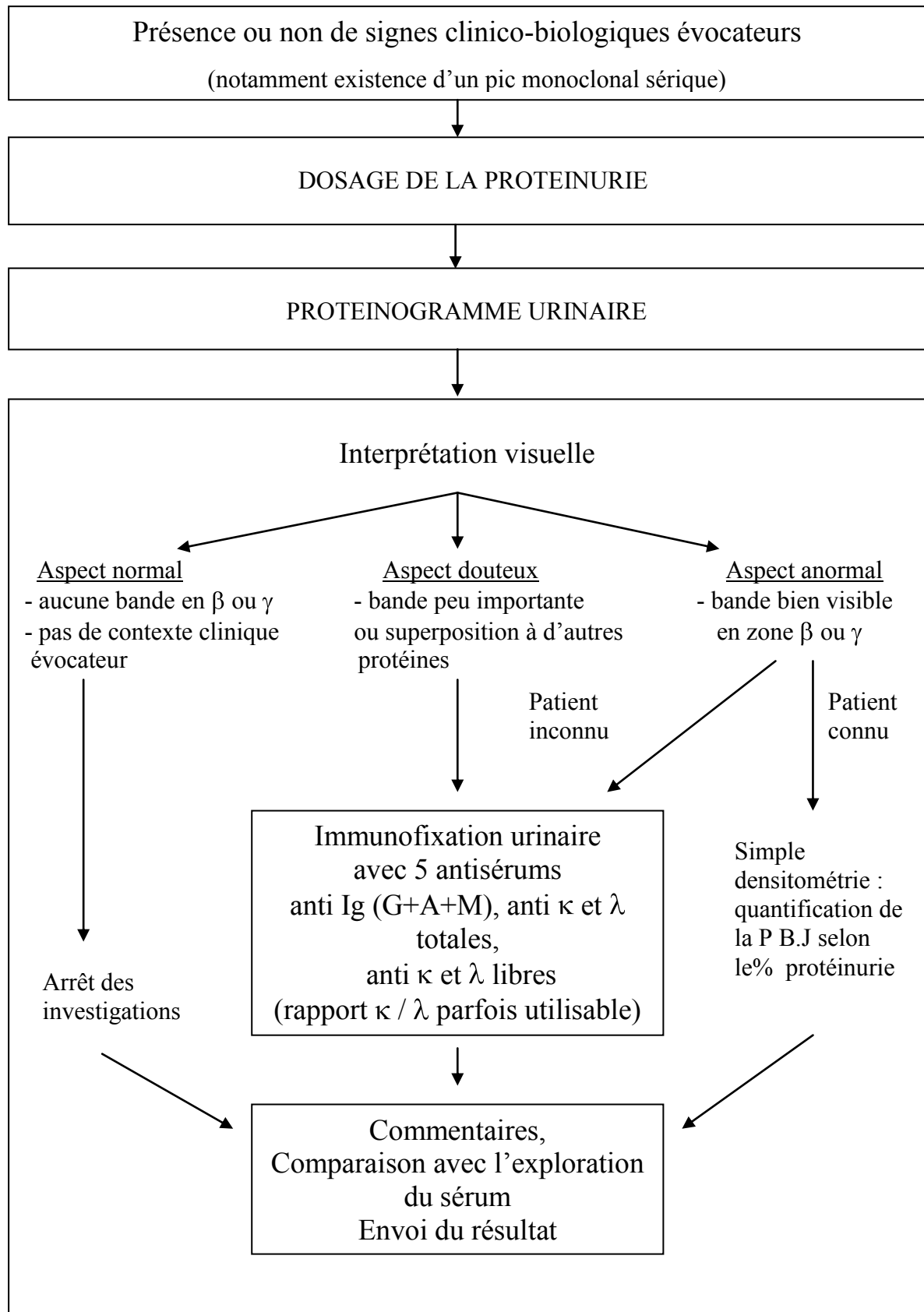
Les urines sont recueillies dans un tube sans conservateur, puis sont centrifugées pour être déposées sur les plaques d'électrophorèse. L'analyse complémentaire suit le même procédé que pour les prélèvements sanguins.

Dans le sérum



Electrophorèse - immunofixation des protéines sériques, Didier Le Carrer. Laboratoire SEBIA, 1994.

Dans l'urine



Electrophorèse - immunofixation des protéines sériques, Didier Le Carrer. Laboratoire SEBIA, 1994.

A - 3 Fichier informatique

Depuis près de 30 ans, le laboratoire de biochimie conserve donc sous format papier, tous les dossiers des patients ayant fait l'objet d'une recherche d'anomalie monoclonale. Ce dossier comporte les bilans sériques et urinaires, ainsi que les gels réalisés pour le typage de l'IgMc. En 2000, l'ensemble de ces dossiers a été informatisé afin de créer une source de données facilement consultables, permettant de savoir notamment si le patient a déjà bénéficié d'une analyse complète ou si c'est un premier bilan (cf annexe 1).

Ce fichier, sous format Excel, est mis à jour à chaque nouvelle analyse du patient, ne gardant alors en mémoire que les résultats les plus récents ; il est donc évolutif. Ainsi, les données recueillies fin décembre 2006 correspondent à une répartition régionale des GM prises à cet instant précis. Il contient 7566 dossiers répertoriés au laboratoire entre 1976 et décembre 2006.

Ce fichier comporte plusieurs données pour chaque patient :

- nom, prénom, date de naissance
- numéro d'identification à l'hôpital (IPP)
- type de l'anomalie monoclonale

A - 4 Logiciel d'exploitation complémentaire

Afin de réaliser ce travail statistique, il a fallu enrichir ce premier fichier par des données complémentaires. Le laboratoire dispose pour cela d'un logiciel d'exploitation des données biologiques permettant de réunir de nombreuses informations sur une analyse déterminée. Cet outil est le logiciel *Business objects* ; il permet en effet de cibler les recherches sur une analyse : nombre de tests réalisés par le laboratoire sur une période définie, service clinique prescripteur et fiche patient associée à l'analyse (nom, prénom, date de naissance, numéro IPP). On dispose en outre de la date à laquelle l'examen a été réalisé. Dans le cadre de notre étude, nous avons considéré cette date comme coïncidant avec le diagnostic du patient.

Précisons également que l'exploitation étant basée sur le recueil du nombre global d'analyses effectuées et non sur le nombre de patients demandeurs, la correspondance entre l'un et l'autre n'est pas exacte puisqu'un même patient peut avoir bénéficié de plusieurs analyses identiques à des périodes différentes.

La recherche par *Business objects* a porté sur trois types d'analyses du sérum :

- les immunofixations de 1995 à 2006
- les immunotypages de 2004 à 2006
- le dosage des chaînes légères totales κ et λ de 1995 à 2006

puisque pour chaque patient, une au moins de ces analyses, a été réalisée pour le diagnostic et/ou le suivi de leur GM.

B - Démarche technique

B - 1 Conversion des fichiers sous format Excel

A partir des données brutes tirées du fichier du laboratoire et des tableaux extraits par *Business objects*, un important travail de regroupement de données a été réalisé afin d'obtenir un seul et même tableau Excel plus facilement exploitable (cf annexe 2).

Nous nous sommes servis du fichier global du laboratoire pour définir le nombre total de patients répertoriés et nous avons utilisé les sources complémentaires pour le compléter. La démarche décrite est dans l'absolu assez simple. Nous avons cependant été confrontés à plusieurs difficultés :

- a) uniformiser les données sous le même format Excel (noms, dates)
- b) retirer les doublons de patients pour tous les tableaux
- c) vérifier et corriger les dates de naissance erronées (homonymes)
- d) assembler les différents tableaux

Cette quatrième étape fut assez longue puisqu'il a fallu procéder ligne par ligne (plus de 7500 dossiers) pour vérifier la bonne identité de chaque patient d'un tableau à l'autre. Ceci est dû au fait que le fichier original comporte davantage de patients, car ils sont répertoriés depuis le début des années 80, alors que les tableaux annexes ne fournissent des données que depuis 1995. La concordance entre les deux étant donc inexacte, aucune fonction informatique n'a pu être utilisée, rendant ce travail long et fastidieux.

B - 2 Recherche des données manquantes

Compte tenu de ce qui a été dit précédemment, on comprend aisément qu'il ait fallu rechercher des informations manquantes pour un grand nombre de patients.

Deux sources de données étaient disponibles :

- ❑ les dossiers papier des patients, conservés au laboratoire et archivés par ordre alphabétique
- ❑ le serveur clinico-biologique de l'hôpital, Clinicom.

Avec l'ensemble de ces données, nous avons pu constituer un tableau final comportant neuf critères définissant chacun des 7566 patients : nom, prénom, IPP, date de naissance, sexe, nature du composant monoclonal, date de diagnostic, âge du patient au moment du diagnostic et service clinique demandeur (cf annexe 2).

B - 3 Les limites du fichier

Les données recueillies depuis de nombreuses années constituent indéniablement un apport important en terme d'étude épidémiologique. Néanmoins, et afin de pouvoir les exploiter avec le plus de rigueur et d'esprit critique possible, il faut en connaître les limites.

La première difficulté est de conserver autant de dossiers sur une période aussi longue (plus de 25 ans) ; certains ont sans doute été déplacés, perdus ou jetés. De plus, on peut supposer que pour certains patients, aucun dossier n'a été constitué. Enfin, lors de l'étape d'enregistrement informatique des dossiers, tous les plus anciens n'ont pas été répertoriés.

Ensuite, il faut rappeler la différence, en terme de performance et de sensibilité, qu'il existe entre les techniques les plus anciennement utilisées et celles dont nous disposons actuellement. L'amélioration analytique des techniques a certainement contribué à un meilleur dépistage et à un suivi des GM.

En ce qui concerne plus précisément les dossiers des patients, on peut émettre quelques réserves quant à l'exploitation de certaines données. Tout d'abord, n'ayant pas accès à tout l'historique de la maladie, nous avons considéré la date de la première électrophorèse anormale réalisée au laboratoire, comme la date de diagnostic.

Par ailleurs, comme nous l'avons déjà dit, le fichier étant évolutif, nous n'avons pas tenu compte du diagnostic posé initialement, mais nous nous sommes basés sur le dernier profil enregistré avant décembre 2006. Toute modification ultérieure n'est donc pas prise en compte. En outre, nous ne pouvons pas certifier que tous les patients se soient fait suivre exclusivement au CHU de Nantes pendant leur maladie.

Enfin, il existe certainement un biais de recrutement à Nantes puisque le CHU constitue un centre de référence interrégional dans la lutte contre le myélome. De plus, il fait parti de l'Intergroupe Francophone du Myélome (IFM) qui conduit de nombreux protocoles de recherche sur les traitements de cette hémopathie maligne.

III) RESULTATS

A - Présentation des données

Le fichier sur lequel s'est basée notre étude compte 7566 dossiers qui sont répartis selon les périodes comme suit :

- avant 1990 : 113 dossiers
- 1990 - 1995 : 507 dossiers
- 1996 - 2000 : 3135 dossiers
- 2001 - 2006 : 3811 dossiers

Or, une étude réalisée au laboratoire en 1991 sur les gammopathies biclonales (Ducasse 1991) recensait alors 2200 gammopathies entre 1986 et 1990 dans les hôpitaux nantais. On peut donc confirmer le fait que lors de l'informatisation des dossiers papier en 2000, tous plus les anciens n'ont pas été répertoriés. En conséquence, bien que certains diagnostics aient été portés dès 1976, la majeure partie des patients de notre fichier a été dépistée après 1995. Les résultats que nous présentons sont donc globalement représentatifs de la répartition des GM sur les 10 dernières années.

B - Répartition selon la classe et le type d'Ig

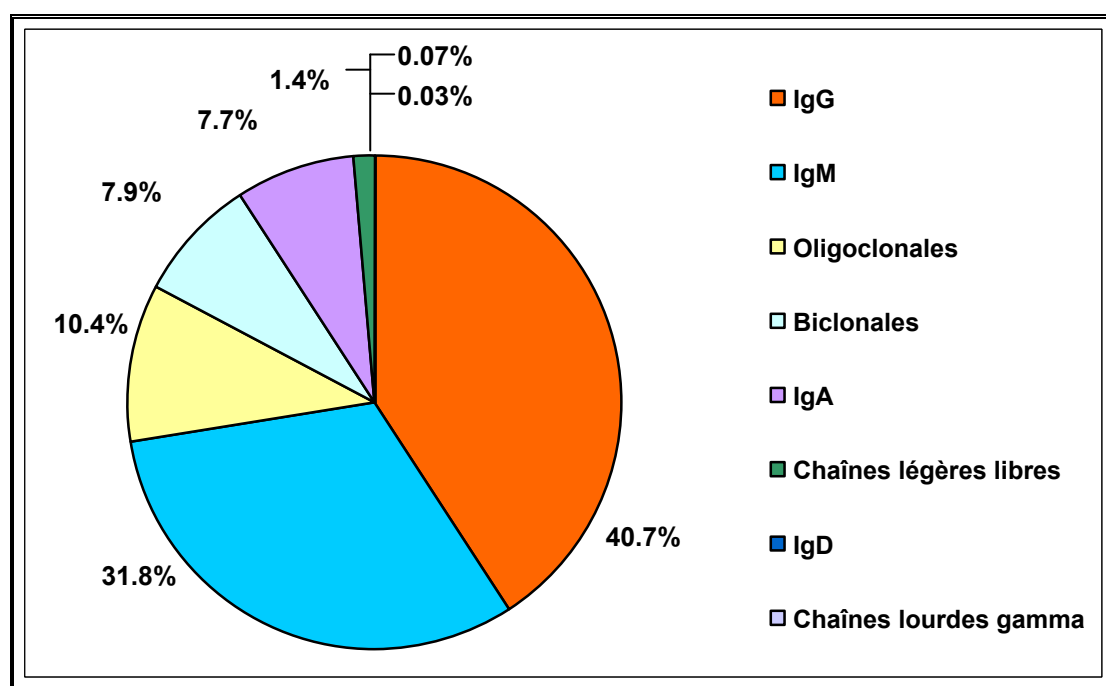
La première information que nous avons extraite du fichier concerne la répartition des GM selon la classe d'Ig isolée : **Tableau 2**

Type d'anomalie	Nombre de patients
IgG	2785
IgM	2174
IgA	524
IgD	5
Profil biclonal	539
Profil oligoclonal	713
Chaînes lourdes gamma	2
Chaînes légères libres	97

Les patients pour lesquels l'analyse complémentaire n'a révélé aucune anomalie, représentent 9,6% de l'ensemble de notre fichier (soit 727 patients). C'est une part non négligeable qui s'explique notamment par l'évolution favorable de certains profils qui présentaient au départ une anomalie monoclonale. L'autre raison est liée au fait que lors de la suspicion d'anomalie monoclonale à l'électrophorèse, le dossier est saisi directement dans l'informatique sans attendre le résultat de l'immunofixation qui peut se révéler normale.

Par ailleurs, précisons que le nombre de chaînes légères libres retenu, ne tient pas compte de la présence conjointe d'une IgMc complète et de chaînes légères libres. Dans ces cas particuliers, seul le type et la classe de l'IgMc complète ont été conservés dans notre fichier.

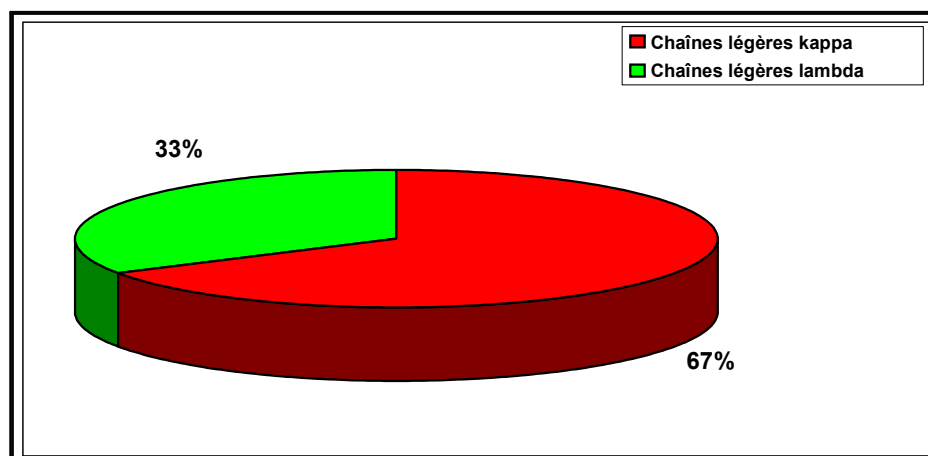
Afin de disposer d'une répartition correcte des profils, nous avons retiré les 727 dossiers « normaux » de nos statistiques pour obtenir les graphiques suivants :



Graphique 1 : Répartition des GM en fonction de la classe d'Ig

Les résultats montrent une prédominance des IgG, devant les IgM qui représentent aussi, avec un taux supérieur à 30%, une part importante des anomalies monoclonales. Le pourcentage global des profils bi et oligoclonaux est proche de 20%, et devance largement la part des IgA détectées dans notre étude.

Graphique 2 : Répartition des GM selon le type d'Ig



Quant aux chaînes légères associées, leur répartition est conforme à celle que l'on retrouve physiologiquement avec un ratio 2/3 de kappa, 1/3 de lambda. Précisons que ce calcul a été réalisé à partir de 5579 anomalies monoclonales, sans tenir compte des gammopathies bi ou oligoclonales.

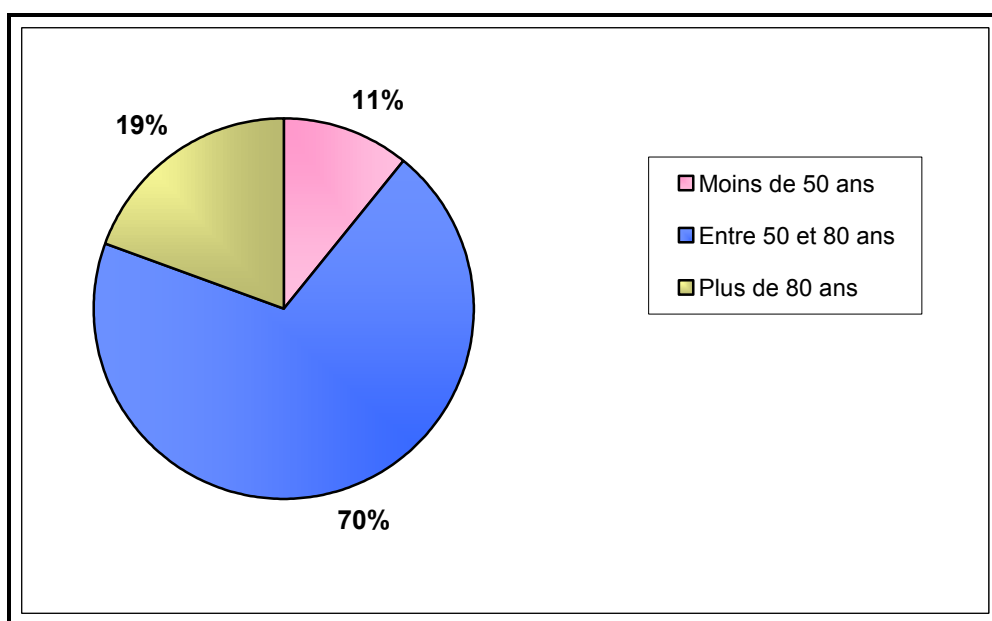
C - Répartition selon l'âge et le sexe

C - 1 Selon l'âge

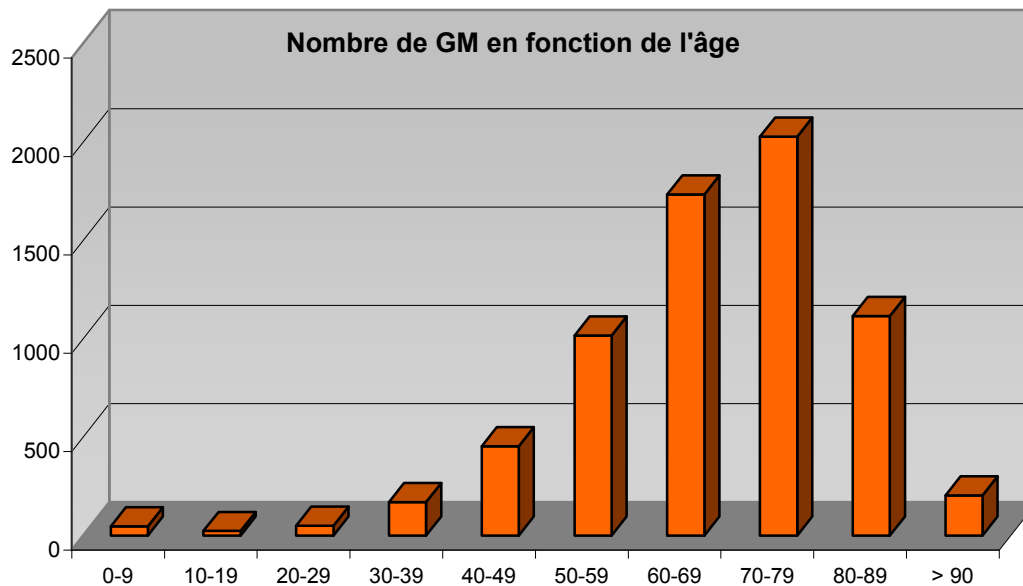
Compte tenu de la grande diversité de pathologies, bénignes et malignes, que regroupe notre fichier, on constate une forte disparité dans la répartition des âges des patients. En effet, les plus jeunes dépistés n'ont que quelques mois alors que les plus âgés ont plus de 100 ans. La moyenne d'âge calculée sur les 6839 dossiers présentant des anomalies est de 67 ans, avec une médiane se situant à 69 ans.

Plusieurs représentations ont été envisagées afin de visualiser le plus clairement possible, la répartition des anomalies en fonction des classes d'âges.

Graphique 3 : Répartition en trois classes d'âge



Graphique 4 : Répartition par tranches de 10 années



Le premier graphique est certes peu précis car les intervalles utilisés sont très larges, mais il a l'avantage de montrer clairement la part très importante des 50-80 ans.

L'histogramme est lui plus précis du fait de la répartition par tranches de 10 années, permettant ainsi d'avoir une vision globale de l'ensemble des classes d'âges. Cela confirme par ailleurs que les GM sont des pathologies du sujet âgé, de plus de 50 ans.

En outre, on observe un aspect pyramidal centré autour des 60-80 ans, qui illustre bien la valeur médiane de 69 ans trouvée dans notre étude.

Enfin, bien que le nombre de cas dépistés notamment chez les 30-39 ans et les plus de 90 ans soient sensiblement identiques, il ne préjuge en rien du caractère malin ou non de la pathologie clinique à l'origine de l'IgMc mise en évidence.

Afin d'étayer ce dernier propos, nous avons, avec les données purement biologiques dont nous disposons, tenté d'affiner la répartition par classes d'Ig, en fonction de l'âge des patients. L'objectif étant d'avoir des données statistiques interprétables, nous nous sommes alors posés la question du choix des intervalles à utiliser.

La répartition par tranches de 10 années permet certes d'obtenir des données précises pour les âges les plus représentés (entre 50 et 80 ans), mais n'apporte aucune information exploitable si l'on considère les âges entre 0 et 40 ou après 80 ans pris individuellement.

C'est pourquoi, nous avons privilégié une répartition selon 3 classes d'âge comme pour le diagramme précédent, en se basant sur une approche plus clinique et en considérant que les GM malignes touchent essentiellement les patients entre 50 et 80 ans, alors que les MGUS sont majoritairement retrouvées chez les plus de 80 ans.

	< 50 ans	50 - 80 ans	> 80 ans	Total
IgG	47,5	40,0	39,0	40,7
IgM	16,4	33,3	35,0	31,8
IgA	5,8	7,8	8,3	7,7
Biclonal	6,3	7,4	10,6	7,9
Oligoclonal	23,1	9,8	5,6	10,4
Chaînes légères	0,7	1,6	0,9	1,4
IgD	0,2	0,1	0,3	0,07
Chaînes lourdes γ	/	/	0,3	0,03
Total des patients	743	4776	1320	6839

Tableau 3 : Répartition des profils (en %) en fonction de l'âge

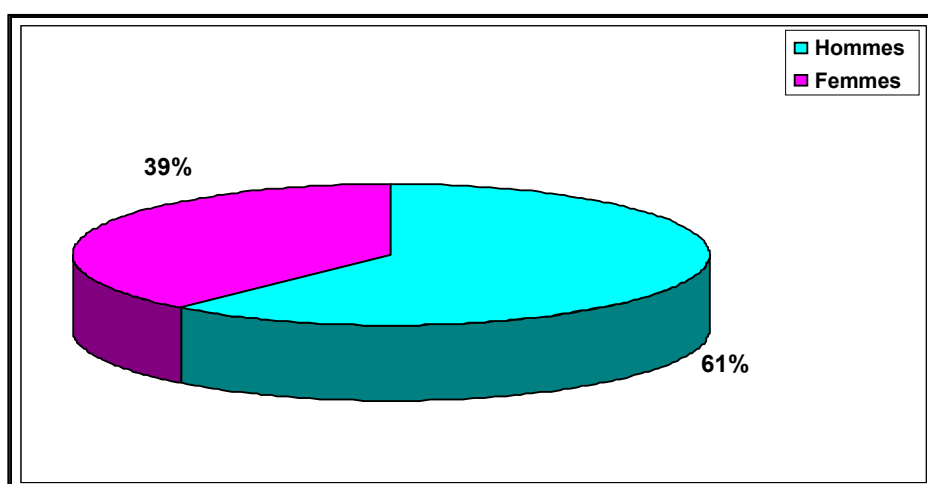
Ce tableau fait ressortir plusieurs informations :

- comme prévu, la répartition des 50-80 ans est sensiblement comparable à la répartition globale puisqu'elle regroupe la majorité des patients de notre fichier.
- pour les plus de 80 ans, on remarque notamment que l'écart des pourcentages entre les IgG et les IgM tend à diminuer.
- c'est chez les moins de 50 ans que l'on observe les plus grandes différences vis à vis de la répartition globale. On constate en effet une diminution de moitié des IgM, alors que le pourcentage des profils oligoclonaux est plus que doublé ; associés aux profils biclonaux, ils représentent alors près de 30% des anomalies.

Ces données biologiques laissent entrevoir les différents contextes cliniques qui peuvent induire la présence d'une anomalie monoclonale. L'importance des profils oligoclonaux chez les moins de 50 ans est probablement en lien avec des affections non malignes, alors que la forte représentativité des IgG et des IgM chez les 50-80 ans évoque davantage des affections malignes telles que le myélome et la maladie de Waldenström.

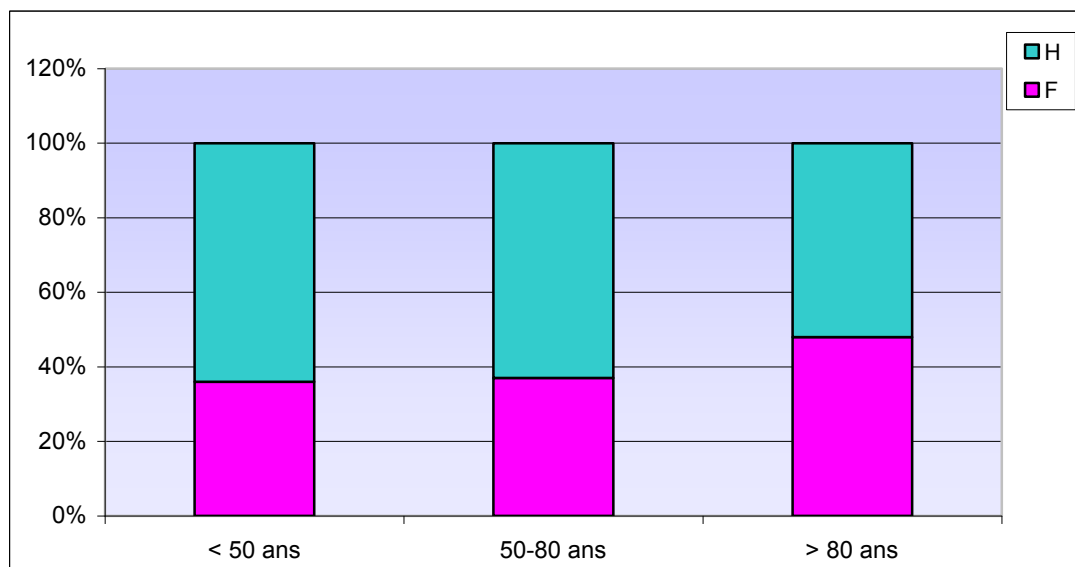
C - 2 Selon le sexe

Sur l'ensemble des patients, on constate une prédominance masculine :



Graphique 5 : Répartition des GM selon le sexe

Si l'on regarde maintenant la distribution hommes / femmes en fonction de l'âge, on obtient le graphique suivant :



Graphique 6 : Répartition H / F par tranches d'âge

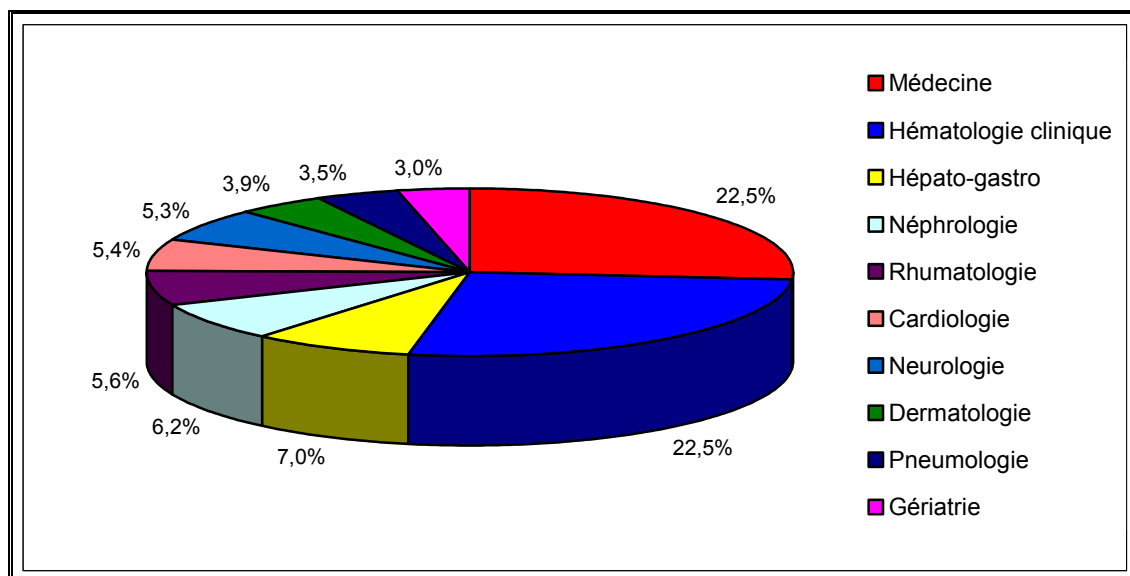
Jusqu'à 80 ans, on ne remarque pas de différences au niveau du sexe-ratio, qui reste à 64% d'hommes et 36% de femmes. Mais au-delà de 80 ans, les pourcentages ont tendance à s'égaliser avec 52% d'hommes et 48% de femmes.

D - Répartition selon les services cliniques

Il nous a semblé intéressant en dernier lieu, d'étudier les variations des profils monoclonaux obtenus, en fonction de l'origine du service clinique prescripteur, ceci supposant bien entendu que les patients soient orientés dans le service approprié au vu de leur pathologie.

Le premier point à signaler est la grande diversité de services amenés à demander une électrophorèse des protéines sériques et / ou urinaires. Nous avons ainsi pu dénombrer près de 200 unités fonctionnelles différentes, soit environ 25 services cliniques.

Nous avons retenu ici les 10 principaux qui représentent 85% des demandes (cf page suivante) :



Graphique 7 : Les principaux services prescripteurs

Précisons quelques points :

- le service de médecine regroupe à la fois la médecine interne et les maladies infectieuses
- les services de néphrologie et de cardiologie comprennent les unités de suivi des greffés
- le service de dermatologie comprend l'unité d'oncologie alors que le reste des spécialités d'oncologie ne sont pas représentées ici puisqu'elles ne concernent que peu de demandes

Nous constatons que les services de médecine et d'hématologie clinique sont à parts égales les deux plus importants prescripteurs, et représentent près de 41% de l'ensemble des demandes de notre fichier.

Loin derrière, nous retrouvons les autres services cliniques qui oscillent entre 330 demandes pour la gériatrie et 525 pour l'hépatogastroentérologie.

En considérant les huit principaux services (avec un nombre de patients ≥ 250), nous nous sommes alors demandés s'il existait des différences dans les profils de répartition des anomalies monoclonales, en fonction de l'origine clinique des patients.

Avant de discuter des résultats, il est important de rappeler que les valeurs trouvées pour chaque service, ont bien entendu été calculées à partir de cohortes de patients plus ou moins grandes, induisant de ce fait une variabilité dans l'interprétation des résultats obtenus.

Ceux-ci sont présentés dans le tableau 4 p50.

Nous pouvons extraire de ce tableau, plusieurs informations intéressantes qui montrent une certaine variabilité inter-services et vis-à-vis de la répartition globale présentée plus haut.

- a. Le premier point marquant concerne la proportion importante des IgM, notamment dans les services de médecine, d'hépto-gastro et de neurologie. Dans les deux premiers, la part des IgM est même prédominante par rapport aux IgG.
A l'inverse, en hématologie, la valeur des IgM se situe en dessous de la répartition globale, avec seulement 26%. Cette diminution est légèrement compensée par une hausse des IgA.
- b. Le deuxième point à relever concerne les pourcentages des profils oligoclonaux dans les services de néphrologie et de cardiologie. Ils se situent en effet au-dessus de 15%, et associés aux profils biclonaux, ils représentent alors près d'1/4 des anomalies observées dans ces deux services. C'est une caractéristique que l'on ne retrouve pas ailleurs.
- c. Enfin, un dernier point mérite d'être évoqué, celui du pourcentage important des chaînes légères libres, en comparaison des statistiques globales bien sûr, retrouvées chez les patients de néphrologie. La valeur est en effet plus que triplée, ce qui marque une spécificité notable de ce service.

Ces résultats témoignent de la variabilité qu'il existe en fonction de l'origine du service prescripteur. Nous pouvons supposer que cette différence est en partie liée aux étiologies cliniques sous jacentes. La dernière partie de la discussion sera pour nous l'occasion de revenir sur cette caractéristique.

Tableau 4 : Présentation de la répartition des anomalies monoclonales en fonction des services cliniques

	Médecine		Hématologie clinique		Hépto-gastro		Néphrologie		Rhumatologie		Cardiologie		Neurologie		Dermatologie	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
IgG	567	36,3	650	42,7	183	38,1	159	40,6	166	42,3	147	40,2	165	44	120	44,8
IgM	587	37,5	393	25,8	184	38,3	90	29,9	124	31,6	108	29,5	141	37,6	80	29,8
IgA	113	7,2	163	10,7	29	6	30	7,6	40	10,2	21	5,7	20	5,3	15	5,6
Biclonal	134	8,6	108	7,1	26	5,4	21	5,3	29	7,4	31	8,5	37	9,8	22	8,2
Oligoclonal	149	9,5	163	10,7	56	11,6	72	18,4	21	5,3	59	16,1	12	3,2	30	11,2
Chaînes légères	13	< 1	41	2,7	2	< 1	18	4,6	11	2,8	/	/	/	/	1	< 1
IgD	/	/	2	< 1	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Total	1563		1521		480		392		392		366		375		268	

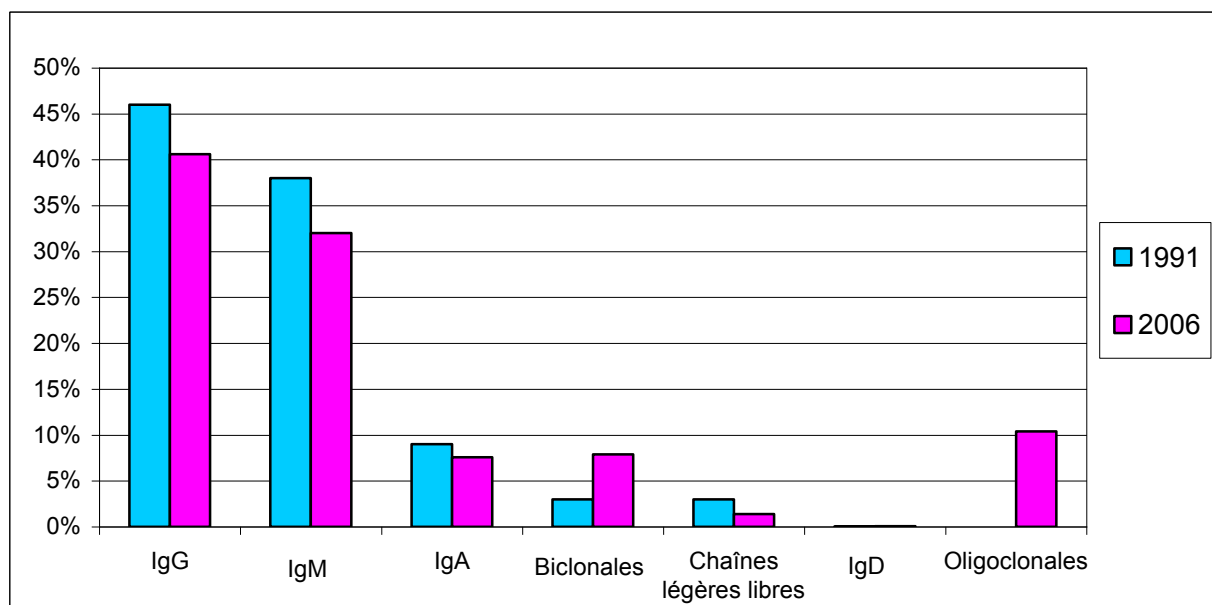
IV) DISCUSSION

A - Répartition selon la classe d'Ig

A - 1 Comparatif nantais

Nous avons recensé dans notre fichier, plus de 7500 GM, diagnostiquées entre 1976 et 2006. Comme nous l'avons déjà évoqué auparavant, la période 1996-2006 regroupe plus de 90% des patients. Or une étude similaire a été menée au laboratoire entre 1985 et 1991, sur 2200 GM.

Le graphique ci-dessous nous permet d'apprécier l'évolution des profils entre ces deux périodes :



Graphique 8: Comparaison des profils entre 1991 et 2006

Nous constatons que les IgG sont prédominantes, suivies par les IgM qui restent à un fort pourcentage (> 30%). Cependant, nous pouvons remarquer que ce taux a légèrement diminué entre 1991 et 2006, parallèlement à l'émergence des profils oligoclonaux. La différence la plus marquante entre ces deux études porte en effet sur l'augmentation importante des anomalies bi ou oligoclonales détectées.

Elles représentent actuellement près de 20% des anomalies monoclonales, alors qu'on ne comptait que 2,9% de gammopathies biclonales en 1991. Notons enfin que le pourcentage de chaînes légères libres détectées dans le sang a été divisé par deux entre 1991 et 2006.

A - 2 Comparaison avec les autres études

Afin de mieux comprendre les particularités de la répartition nantaise, nous avons rassemblé dans les tableaux 5 et 6 (page suivante), les différents profils obtenus au cours de plusieurs études françaises et étrangères.

Avant d'entrer dans les détails, il est important de nuancer les résultats obtenus en fonction de la spécificité des études en termes de recrutement des patients et de méthodologie.

Les hôpitaux nantais regroupent de nombreux services cliniques plus ou moins spécialisés. Or, toutes les analyses d'électrophorèses sont réalisées sur un seul site, celui du CHU. Nous disposons donc ici d'un éventail assez large de patients.

Cependant, il existe une grande variabilité dans ce domaine puisque dans certaines études, comme celle de Decaux à Rennes, les pourcentages concernent un seul service clinique (médecine interne) alors que dans d'autres, comme en Islande ou en Hollande, les valeurs sont basées sur un dépistage massif de la population.

Enfin, les résultats peuvent également être influencés par les techniques d'analyse. Entre les études les plus anciennes, qui utilisaient l'acétate de cellulose et l'IEP, et les plus récentes qui utilisent l'agarose ou le capillaire et l'IF, il existe de grandes différences. L'évolution dans le domaine de la biologie est donc à prendre en compte dans l'interprétation des résultats présentés ci-dessous.

**Tableau 5 : Comparatif de la distribution des différentes
classes d'IgM
Etudes françaises réalisées entre 1970 et 2007**

Type (%) d'Ig Etudes	IgG	IgM	IgA	Chaînes légères	Biclonaux	IgD	Chaînes lourdes
Saleun 1982 Brest n = 334	67.9	23.7	5.9	1.3	1.9	/	/
Hurez 1985 Poitiers n = 4193	46.9	31.6	12.4	4.6	4.2	0.3	/
Legras 1983 Rennes n = 243	46.5	34.5	14.5	4.5	/	/	/
Decaux 2007 Rennes n = 1051	42.8	31.9	8.9	6.6	9.8	/	/
Decaux 2007 Blois n = 1282	59.7	25.7	11.8	2.7	/	0.2	/
Creysse 1975 Lyon n = 1000	56.6	14.5	17.0	11.6	/	0.3	/
Dugue 1970 Paris n = 559	55.4	19.7	18.7	4.9	/	0.6	0.7
Pontet 2004 Paris n = 3007	57	16	14	7	6	/	/
Fine 1975 Paris n = 757	49.1	25.1	19.8	6	/	/	/

Nantes 2008	40.7	31.8	7.7	1.4	7.9	0.07	0.03
------------------------	-------------	-------------	------------	------------	------------	-------------	-------------

+ 10,4 oligoclonaux

**Tableau 6 : Comparatif de la distribution des différentes
classes d'IgMc
Etudes étrangères réalisées entre 1976 et 2005**

Type (%) d'Ig Etudes	IgG	IgM	IgA	Chaînes légères	Biclonaux	IgD	Chaînes lourdes
Ameis 1976 USA n = 1242	58.4	13.0	14.7	9.8	2.5	1.0	/
Giraldo 1994 Espagne n = 1203	63.3	9.5	17.8	5.3	3.8	/	/
Makni 1990 Tunisie n = 198	47.7	3.5	15.3	13.2	/	3.1	17.2
Mseddi 2005 Tunisie n = 288	51.7	8.7	20.8	13.6	2.1	1	2.1
Ong 1997 Hollande n = 1275	64.8	21.2	11	7	11	< 1	/
H M. O 2002 Islande n = 614	55	32	13	/	/	/	/

Nantes 2008	40,7	31,8	7,7	1,4	7,9	0,07	0,03
------------------------	-------------	-------------	------------	------------	------------	-------------	-------------

+ 10,4 oligoclonaux

Le point commun de toutes les études, y compris la nôtre, est la présence toujours majoritaire de l'istotype IgG. Un écart non négligeable peut cependant être relevé entre le pourcentage obtenu dans notre étude (41%) et ceux obtenus dans les études les plus récentes (> 55%) (Giraldo, Rubio-Felix et al. 1994; Ong, Hermans et al. 1997; Ogmundsdottir, Haraldsdottir et al. 2002; Pontet 2005; Decaux, Rodon et al. 2007).

Cette différence est compensée notamment par le fort taux des IgM retrouvé dans notre étude (> 30%). Les gammopathies à IgM y sont en effet plus largement représentées que dans la plupart des autres publications (Dugue, Rousselet et al. 1971; Creyssel, Gibaud et al. 1975; Ameis, Ko et al. 1976; Makni, Zouari et al. 1990; Giraldo, Rubio-Felix et al. 1994; Mseddi-Hdiji, Haddouk et al. 2005; Pontet 2005).

Ce résultat est en accord avec les autres études menées en France dans la région ouest, Brest (Saleun, Vicariot et al. 1982), Angers, Poitiers (Hurez, Youinou et al. 1985) et Rennes (Legras, Gaudin et al. 1984; Decaux, Rodon et al. 2007). Cette particularité n'a pas été décrite dans le reste de la France (Paris ou Lyon), et seule l'étude islandaise de 2002 vient contredire l'argument régional de ce résultat.

Les précédentes études, notamment celles de Saleun (Saleun, Vicariot et al. 1982) et de Hurez (Hurez, Youinou et al. 1985) ont tenté d'expliquer ce fait par l'existence de facteurs génétiques susceptibles de déréguler la synthèse de certaines Ig, notamment les IgM ; la notion de facteurs héréditaires a également été envisagée. Enfin, l'hypothèse de facteurs environnementaux (milieu rural, présence de pesticides, radioactivité du sol) a été émise au vu du confinement spatial des anomalies observées. Cependant, depuis 20 ans, aucune étude n'a pu confirmer ces arguments et l'étude d'Ong (Ong, Hermans et al. 1997) réalisée sur 614 patients, remet en question la notion de régionalisme.

Pourquoi alors dépistons-nous davantage d'anomalies à IgM (malignes ou bénignes) que nos voisins français et étrangers ?

Le pôle de compétences créé à Nantes dans le domaine du myélome ne s'arrête pas à la seule prise en charge de cette maladie, mais influence aussi très certainement, le nombre global de patients atteints d'hémopathies ou de MGUS consultant au CHU. Ceci explique sans doute l'importance de notre cohorte en comparaison des autres études menées sur des périodes aussi longues (Hurez, Youinou et al. 1985; Ogmundsdottir, Haraldsdottir et al. 2002; Pontet 2005). Mais cet argument peut-il à lui seul expliquer cette répartition ?

Il semble que non, puisque cette particularité (le pourcentage d'IgM détecté) est également observée dans les autres grandes villes de l'ouest et ceci depuis les années 1970, avant même le développement des centres de référence du myélome.

En outre, il paraît difficile de trouver un lien avec les résultats de l'étude islandaise qui sont tirés de l'ensemble de la population, sans sélection particulière.

Quant à l'argument génétique évoqué, il faudrait une étude approfondie pour le démontrer, et au vu de l'augmentation croissante des flux de population, il tendrait à s'atténuer.

Néanmoins, il est intéressant de constater que notre répartition est très similaire à celle obtenue par l'équipe rennaise l'année dernière (Decaux, Rodon et al. 2007). De plus, cette étude est l'une des seules, avec celle d'Ong (Ong, Hermans et al. 1997), à observer une proportion importante (près de 10%) de profils biclonaux. Alors que Ducasse ne dénombrait que 2,9% de gammopathies biconales en 1991 à Nantes, ce taux a fortement augmenté en 15 ans, avec l'émergence de nouveaux profils, dits oligoclonaux.

Plusieurs faits peuvent expliquer ces résultats :

- a) Le premier point à envisager, est celui de l'aspect biologique ; depuis 15 ans, on a pu constater une amélioration croissante des performances des techniques de biologie utilisées au laboratoire, notamment en termes de sensibilité et de résolution. Certains pics peu importants ou de migration trop proches (zone $\beta 1$ et $\beta 2$) étaient plus difficiles à visualiser que maintenant, d'où une sous-estimation probable.
- b) Le second argument est clinique. Dans les années 80, on a vu apparaître de nouveaux médicaments, les immunosuppresseurs (utilisation de la Ciclosporine dès 1983, (Canafax and Ascher 1983)). Leur utilisation s'est alors largement répandue dans le milieu hospitalier au cours de ces 15 dernières années. Suite à cela, les greffes (d'organes ou de moelle osseuse) ont connu un essor considérable. Par exemple, le service d'hématologie a réalisé sa première greffe en 1984 et depuis, 3000 greffes ont été réalisées ; de même, la première greffe rénale a eu lieu en 1970, et on en dénombre près de 3650 depuis.

Ceci a eu pour conséquence une augmentation importante du nombre de patients immunodéprimés, auxquels peuvent s'ajouter les patients HIV+ (depuis 1983).

Or, cet état pathologique induit une stimulation du système immunitaire qui conduit alors à l'apparition de plusieurs pics à l'électrophorèse.

Nantes étant un grand centre d'hématologie et de néphrologie, ceci peut expliquer le nombre grandissant de profils bi et oligoclonaux observés.

Les patients bénéficient maintenant d'une meilleure thérapeutique, et il n'est pas rare de constater une évolution de leurs profils au cours de leur prise en charge (des pics uniques laissant place à des bandes multiples).

Cependant, le caractère bénin des profils oligoclonaux (notamment en post-greffe) ne doit pas faire oublier qu'un clone majoritaire peut émerger dans le temps, avec le risque de voir apparaître un lymphome secondaire au traitement immunosuppresseur. Une surveillance régulière est donc préconisée. Ce suivi explique pourquoi nous disposons souvent pour un même patient, de nombreux protéinogrammes.

La dernière caractéristique que l'on peut relever dans notre distribution par type d'Ig, concerne le pourcentage de chaînes légères libres. Seul Saleun à Brest en 1982 retrouvait un taux aussi faible que dans notre étude (1,4%).

Cette constatation est peut être due en partie au terme utilisé. En effet, dans la plupart des études, un amalgame est fait entre chaînes légères libres sériques et protéinurie de Bence-Jones. Or dans notre cas, le pourcentage concerne uniquement les chaînes légères libres détectées dans le sérum des malades. La présence d'une PBJ n'a en effet jamais été signalée dans le fichier informatique des patients.

B - Répartition selon le type d'Ig

Dans notre série de patients, environ 66% des chaînes légères (libres et liées) sont d'isotype kappa et 33% sont d'isotype lambda. Or, physiologiquement, les chaînes légères kappa sont synthétisées en excès par rapport aux chaînes lambda ; le ratio κ/λ est proche de 2 (Whicher, Wallage et al. 1987). Il paraît donc tout à fait cohérent de retrouver une telle proportion au sein des GM.

En outre, un rapport comparable est retrouvé dans de nombreuses études françaises (Dugue, Rousselet et al. 1971; Fine and Lambin 1975; Decaux, Rodon et al. 2007) et étrangères (Ong, Hermans et al. 1997).

Il est intéressant de constater par ailleurs que, si l'on considère uniquement la répartition des anomalies monoclonales à chaînes légères libres (myélome à chaînes légères, amylose AL), le nombre de CLL kappa (50) et de CLL lambda (47) de notre série est quasiment identique.

Le myélome à CLL kappa est deux fois plus fréquent que celui à CLL lambda (Lopez, Dauwalder et al. 2006). A l'inverse, 2/3 des cas d'amylose primitive sont à CLL lambda. Etant donné que l'incidence de ces deux pathologies est assez comparable (4-6 cas / 1000 000 habitants), nos résultats sont donc tout à fait cohérents.

C - Répartition selon le sexe et l'âge

C - 1 Le sexe-ratio

La prédominance masculine de notre étude (ratio de 1,5) est un résultat tout à fait cohérent avec les données des études citées précédemment.

Deux études, celles de Saleun et de Makni en Tunisie, retrouvent des chiffres parfaitement similaires aux nôtres. Néanmoins, l'écart entre les deux populations est généralement plus faible, autour de 51% d'hommes et 49% de femmes (Ogmundsdottir, Haraldsdottir et al. 2002; Pontet 2005; Decaux, Rodon et al. 2007).

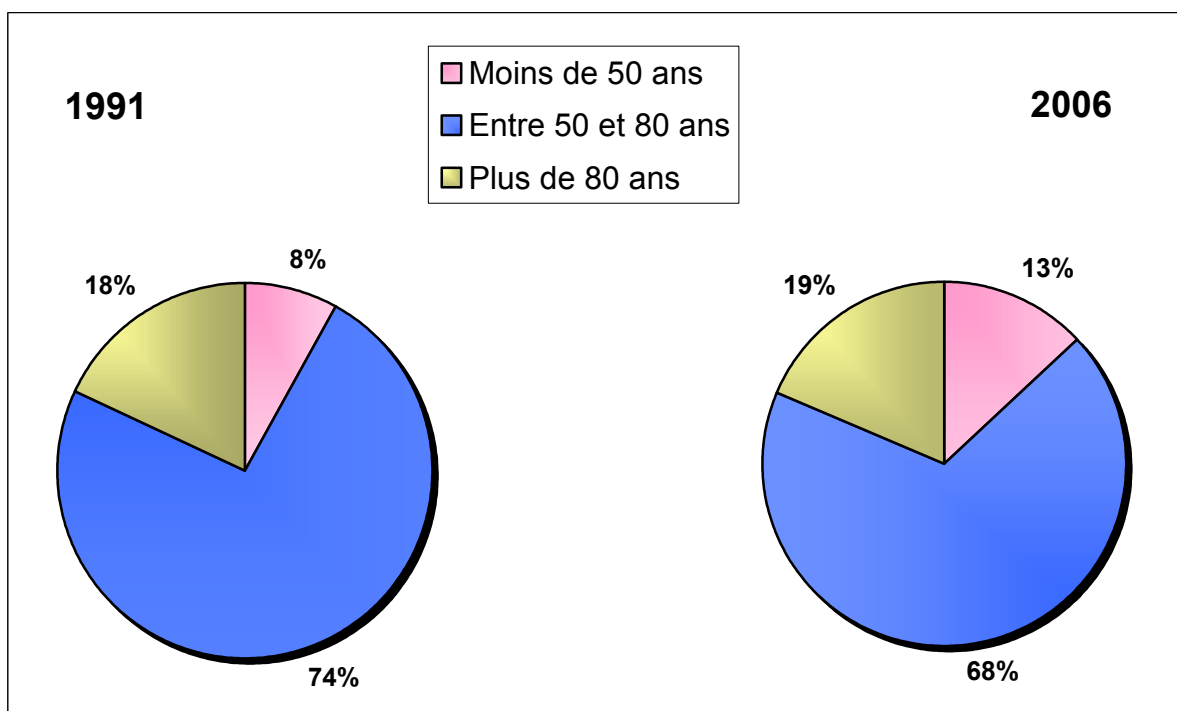
Etant donné le manque d'informations dont nous disposons sur la pathologie de chaque patient, nous ne pouvons affiner ces résultats en fonction du type de GM.

Toutefois, nous pouvons confirmer ces résultats avec les données de la littérature sur le myélome : ratio de 1,4 (Dispenzieri and Kyle 2005) et sur la maladie de Waldenström : prédominance masculine (Dimopoulos and Anagnostopoulos 2005).

Enfin, si l'on s'attache à observer plus particulièrement la répartition chez les plus de 80 ans, on constate une augmentation du nombre de femmes par rapport à l'ensemble de notre série (48% pour 39%). Or, ce résultat est en accord avec celui retrouvé dans l'étude de la Mayo Clinic (46%) (Kyle, Therneau et al. 2002) et dans l'étude danoise (49,4%) (Gregersen, Mellekjaer et al. 2000) sur les MGUS. On peut probablement attribuer cela à l'espérance de vie plus grande des femmes dans notre société.

C - 2 L'âge

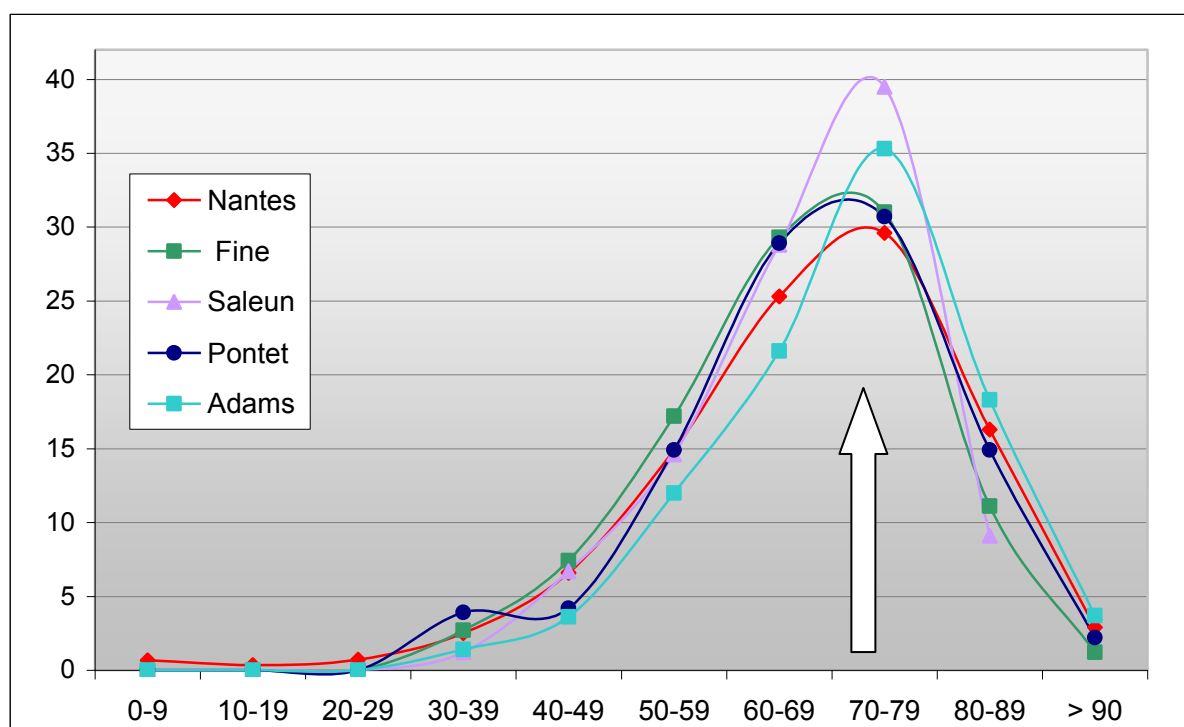
Le graphique ci-dessous permet de reprendre la répartition par classes d'âge, en 1991 et en 2006. Les profils sont très comparables, bien que l'on note une petite augmentation de la part des moins de 50 ans entre 1991 et 2006.



Graphique 9 : Comparaison de la répartition des classes d'âge entre 1991 et 2006

Dans notre étude, l'âge moyen du diagnostic est de 67 ans (0 - 101 ans). Ce chiffre est en accord avec d'autres séries publiées, et s'explique par l'étendue des services cliniques prescripteurs (de la pédiatrie à la gériatrie). La moyenne d'âge est de 71 ans dans l'étude de Decaux à Rennes, de 69 ans dans celle de Pontet à Paris, et de 70 ans dans les deux études nordiques menées en Hollande et en Islande. En revanche, il est intéressant de noter que l'étude tunisienne et l'étude espagnole présentent une moyenne d'âge plus jeune, autour de 62 ans. Seuls les patients de la série de Blois présentent une valeur plus élevée, à 79 ans.

Le graphique suivant représente par tranches d'âge, le pourcentage des GM retrouvées dans 5 études, dont la nôtre :



Graphique 10 : Répartition du nombre de GM par âge, étude comparative

Une constatation évidente ressort de ce graphique, c'est que quelles que soient les séries, la répartition en fonction de l'âge suit un modèle similaire avec une représentation pseudo pyramidale, centrée autour des 70-79 ans. Ensuite, ces résultats confirment la valeur médiane de 69 ans trouvée dans notre étude, et illustrent le fait que les GM sont majoritairement des pathologies de la personne âgée, puisque 55% de nos patients ont plus de 60 ans.

A cela, quelques nuances peuvent être apportées en fonction du type de GM. En effet, il y a 30 ans, Dugue (Dugue, Rousselet et al. 1971) a remarqué que les myélomes à IgA et à chaînes légères touchaient des patients plus jeunes (à partir de 45 ans), que la maladie de Waldenström (à partir de 55 ans).

Néanmoins, concernant particulièrement ces deux entités cliniques, les données récentes dont nous disposons ne viennent pas confirmer ces observations, puisque selon les études, l'âge moyen varie entre 60 à 71 ans pour le myélome et entre 63 à 68 ans pour la maladie de Waldenström. Ces valeurs ne montrent donc pas de différence significative.

De même, les données concernant les MGUS ne semblent pas différer significativement des autres pathologies bien que la prévalence de ces affections augmente avec l'âge (elle est 4 fois plus grande chez les plus de 80 ans que chez les 50-59 ans (Kyle, Therneau et al. 2006)). La moyenne d'âge décrite par Gregersen (Gregersen, Møller et al. 2000) est de 67,9 ans, tandis que Kyle trouve une médiane à 72 ans (Kyle, Therneau et al. 2002).

Ainsi, les données de la littérature sur les principales GM concordent parfaitement avec nos résultats, bien que nous n'ayons pas pu établir un parallèle plus étroit pour chaque pathologie étant donné l'importance de notre fichier.

Enfin, si l'on s'intéresse aux patients les plus jeunes, on constate que la part représentée par les moins de 40 ans reste très faible puisque l'on dénombre à peine 400 cas dans notre étude. Néanmoins, ce chiffre n'est pas négligeable au vu des résultats de Saleun qui, en 1982, ne décrivait aucune GM en dessous de 30 ans.

Cependant, comme le suggère Pontet dans son étude, plus de 2/3 des cas au moment du diagnostic, sont associés à des pathologies bénignes et ne sont pas en lien direct avec une GM ; seulement 0,2% des cas de myélome et de maladie de Waldenström atteignent des sujets de moins de 40 ans (Pontet 2005).

Ainsi l'augmentation de la part des moins de 50 ans constatée à Nantes entre 1991 et 2006, est probablement liée, d'une part à l'accroissement du nombre de demandes (tous âges confondus) et d'autre part, à l'amélioration des techniques d'électrophorèse, plutôt qu'à une augmentation réelle du nombre de GM malignes chez les sujets jeunes.

D - Répartition en fonction des services prescripteurs

Cette dernière partie de la discussion est pour nous l'occasion d'aborder plus en détails, certains contextes cliniques susceptibles d'être associés à des anomalies monoclonales. L'objectif n'est pas de reprendre l'ensemble des gammopathies malignes et bénignes précédemment citées, mais plutôt d'établir selon les services, un parallèle entre certaines caractéristiques de la distribution par classe d'Ig et les étiologies cliniques possibles.

Pour rappel, vous trouvez ci-dessous le tableau général par service déjà cité p50 :

Tableau 4 : Présentation de la répartition des anomalies monoclonales en fonction des services cliniques

	Médecine		Hématologie clinique		Hépto-gastro		Néphrologie		Rhumatologie		Cardiologie		Neurologie		Dermatologie	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
IgG	567	36,3	650	42,7	183	38,1	159	40,6	166	42,3	147	40,2	165	44	120	44,8
IgM	587	37,5	393	25,8	184	38,3	90	29,9	124	31,6	108	29,5	141	37,6	80	29,8
IgA	113	7,2	163	10,7	29	6	30	7,6	40	10,2	21	5,7	20	5,3	15	5,6
Biclonal	134	8,6	108	7,1	26	5,4	21	5,3	29	7,4	31	8,5	37	9,8	22	8,2
Oligoclonal	149	9,5	163	10,7	56	11,6	72	18,4	21	5,3	59	16,1	12	3,2	30	11,2
Chaînes légères	13	< 1	41	2,7	2	< 1	18	4,6	11	2,8	/	/	/	/	1	< 1
IgD	/	/	2	< 1	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Total	1563		1521		480		392		392		366		375		268	

D - 1 Médecine et Hématologie

Bien que ces deux services représentent plus de 40% des patients de notre fichier, les résultats de la répartition des Ig ne présentent pas de caractéristiques facilement identifiables à un contexte clinique précis. Cette difficulté est en partie due à la grande diversité de pathologies prises en charge par ces services et au manque de données dont nous disposons.

Nous pouvons simplement signaler que le « pôle » médecine regroupe la médecine interne et les maladies infectieuses dont le CISIH. En conséquence nos résultats sont le reflet d'un large éventail de patients et d'autant de pathologies (infectieuses ou non). D'ailleurs, dans un certain nombre de cas, les IgMc ne sont que transitoires (Giraldo, Rubio-Felix et al. 1994). Il est donc difficile de trouver une explication précise à la forte proportion d'IgM (> 35%) et d'Ig biclonales retrouvées dans notre série.

Le même problème se pose pour l'hématologie clinique qui comprend à la fois, les unités de consultations externes, d'hospitalisation, de soins intensifs, de suivi de greffes et de suivi de chimiothérapie. Même s'il semble cohérent d'y retrouver la majorité des patients atteints de GM maligne, ce ne sont pas les seules affections dépistées dans ce service, à pouvoir induire des anomalies monoclonales. Ainsi, nos résultats, notamment le pourcentage des IgM (26%) et celui des IgA > 10%, ne peuvent pas être les témoins tout à fait exacts de la répartition des GM malignes dans ce service.

D - 2 Hépto-gastroentérologie

Introduction

L'hépto-gastroentérologie est le troisième plus important service prescripteur, certes loin derrière l'hématologie clinique et la médecine.

La répartition par classes d'Ig au sein de ce service met en évidence un fort taux d'IgM (38,3%), supérieur à la valeur moyenne globale. Les profils bi et oligoclonaux représentent aussi une part non négligeable. En contre partie, le pourcentage des IgA est très faible, avec seulement 6%.

Comment peut-on rattacher ces caractéristiques biologiques à la clinique ?

Sans entrer dans les détails de toutes les étiologies possibles, il apparaît selon les données de la littérature, qu'une des causes majeures induisant en hépatologie, des anomalies

mono et oligoclonales, est l'infection chronique par le VHC. Découvert en 1989, ce virus touche des centaines de milliers de personnes en France.

Rôle du VHC

Selon Guida, le VHC serait un virus à tropisme à la fois hépatocellulaire et lymphocytaire ; la persistance du virus au sein de ces cellules pourrait induire, avec d'autres facteurs, une expansion clonale de type B à l'origine d'une lymphoprolifération maligne (Guida, D'Elia et al. 2002).

Des études italiennes (Silvestri and Baccarani 1997) et américaines (Zuckerman, Zuckerman et al. 1997) ont confirmé la forte prévalence du VHC chez les sujets atteints de LNH (19%). Par ailleurs, d'après de nombreux auteurs, il existerait un lien étroit entre le VHC et la cryoglobulinémie mixte (CM) qui constituerait la principale manifestation extra hépatique de l'hépatite C (Galossi, Guarisco et al. 2007).

Cryoglobuline

Rappelons ici qu'une cryoglobuline est une Ig qui a la propriété de précipiter à froid et de se dissoudre à 37°C. On peut observer ce phénomène au cours de différentes affections : hématologiques, infectieuses, rhumatologiques (Morra 2005).

Les conséquences cliniques sont variées : arthralgies, fatigue, atteinte cutanée, glomérulonéphrite, vascularites, neuropathies périphériques, atteinte hépatique (Galossi, Guarisco et al. 2007).

Selon la classification de Brouet (technique IEF), il existe trois types de cryoglobulines (Brouet, Clauvel et al. 1974) :

Type	Anomalies monoclonales associées	Pathologies
I	IgMc (IgM ou IgG)	MW, MM
II	IgMc (IgM, IgG, IgA) + Ig polyclonales (IgG)	CM
III	Ig polyclonales (IgG et IgM)	CM

Notons que D. Le Carrer a proposé une nouvelle classification, séparant le type II en type IIa et IIb, prenant en compte les cryoglobulines ayant des Ig oligoclonales.

Cette pathologie peut peut-être expliquer certains résultats de notre répartition, même s'il est important de préciser que les profils des cryoglobulines ne correspondent pas forcément aux mêmes anomalies détectées dans le sérum des patients.

En outre, le pourcentage de profils oligoclonaux (11,6%) s'explique peut-être aussi par les traitements anti-VHC (Ribavirine, Interféron), ainsi que par l'augmentation des greffes hépatiques depuis les années 80.

Etudes

Comme nous l'avons précisé ci-dessus, le VHC est le virus hépatique le plus couramment cité dans les études associant des anomalies monoclonales. C'est pourquoi, nous proposons d'illustrer cela par quelques chiffres issus de la littérature.

a) Taux de GM (MM, MW et MGUS) retrouvées chez les patients VHC + :

(Andreone, Gramenzi et al. 1996) Italie	198 patients	11%
(Andreone, Zignego et al. 1998) Italie	239 patients	11%
(Perrone, Deramo et al. 2001) Italie	530 patients	11,5%

b) Taux de CM chez VHC + :

(Andreone, Gramenzi et al. 1996) Italie	198 patients	10%
(Parise, de Oliveira et al. 2007) Brésil	202 patients	27%
(Saadoun, Landau et al. 2007) France		40-60%

c) Proportion de patients VHC + dans les CM :

(Mussini, Ghini et al. 1995) Italie	201 patients	84%
(Andreone, Zignego et al. 1998) Italie	239 patients	81%
(Roccatello, Fornasieri et al. 2007) Italie	146 patients	87%

En conclusion, on peut affirmer d'après le dernier tableau le lien étroit qu'il existe entre le VHC et l'apparition d'une CM. Depuis plusieurs années, cette recherche est d'ailleurs systématisée chez les patients porteurs du virus. Bien que biologiquement identifiables, les CM sont cependant souvent asymptomatiques. Enfin, le pourcentage de GM (MW, MM, MGUS) observées chez ces patients n'est pas négligeable si l'on compare l'incidence de ces maladies dans la population générale, même si l'on peut supposer que les MGUS constituent le groupe prédominant.

D - 3 Néphrologie

Le service de néphrologie représente environ 5% des demandes enregistrées au laboratoire. Plusieurs raisons peuvent justifier ces prescriptions : il faut différencier d'un côté, les conséquences cliniques directes des GM, et de l'autre, le suivi des greffes.

D-3-1 Conséquences des GM

Les anomalies de la fonction rénale sont des complications fréquentes dans les GM malignes. On constate en effet une élévation de la créatininémie dans plus de 50% des cas de MM et la déficience rénale est la seconde cause de décès chez ces patients (Kyle 1975).

Elles peuvent résulter d'atteintes isolées du rein : glomérulaire, tubulaire, vasculaire, ou de plusieurs événements combinés. Elles induisent des manifestations de type : protéinurie, syndrome néphrotique, tubulopathies interstitielles, glomérulonéphrites (Pozzi and Locatelli 2002), voire une l'insuffisance rénale aiguë pour 10% des patients (Herrera 2000).

Bien que toutes les GM malignes puissent induire des dysfonctionnements rénaux, les principales pathologies en cause sont l'amylose primitive AL, la maladie des dépôts des chaînes légères (LCDD) et plus rarement la maladie des dépôts des chaînes lourdes (HCDD) (Herrera 2000).

Le diagnostic précoce de ces GM est difficile, c'est pourquoi il est souvent réalisé au stade de l'atteinte rénale. Ceci explique sans doute la raison pour laquelle on retrouve un taux élevé de chaînes légères libres (4,6%) au sein du service de néphrologie.

Rappelons que les CLL kappa sont présentes dans le sérum sous forme de monomères, et sont filtrées par le glomérule rénal plus vite que les CLL lambda qui circulent sous forme de dimères ou de tétramères. Ce métabolisme explique que la concentration sérique des CLL lambda soit supérieure à celle des CLL kappa, alors que c'est l'inverse dans l'urine. Physiologiquement, on ne retrouve pas de CLL dans l'urine puisque près de 99% sont réabsorbées par le tube proximal. En revanche, dans les GM elles sont synthétisées en excès, s'accumulent au niveau sérique et commencent à être éliminées dans l'urine lorsque le seuil de réabsorption est dépassé (Actualités Pasteur Cerba, juin 2007).

La pathogénicité des composants monoclonaux dépend de plusieurs facteurs : leur nature, leur structure primaire, leur catabolisme in situ, ainsi que leurs interactions avec les tissus et composants cellulaires environnants (Merlini and Pozzi 2007).

Dans l'amylose AL, on observe des dépôts fibrillaires constituant des plaques amyloïdes, qui remplacent alors la matrice extracellulaire initiale. Dans la LCDD, les chaînes légères apparaissent soit sous la forme de nodules, soit sous la forme de précipités diffus qui se localisent le long des membranes basales des tubules. Ceci a pour effet d'induire notamment une sclérose du glomérule rénal, une inflammation des tubules et une hypoperfusion du rein.

D-3-2 Les greffes

L'importance des profils oligoclonaux (18,6%) constitue une autre caractéristique intéressante de ce service. Or, Nantes est un grand centre hospitalier pour la prise en charge des greffes rénales (environ 160 par an). On peut donc supposer que le pourcentage retrouvé est corrélé à cette activité clinique.

Dès 1985, il a été constaté que l'incidence des GM était plus élevée (multipliée par 10) chez les sujets greffés que chez les non greffés (Radl, Valentijn et al. 1985). Selon les études, le pourcentage d'IgMc détectées en post-greffe oscille entre 3% (Segoloni, Giacchino et al. 1990) et 30% (Radl, Valentijn et al. 1985). Une étude française de 1997 (Touchard, Padeloup et al. 1997) suggère cependant que 85% des patients développeraient une anomalie monoclonale en post-greffe. Il faut néanmoins nuancer ce résultat car leur dépistage est en effet très technique-dépendant.

Or, ils utilisent ici des méthodes ultrasensibles comme l'électrophorèse de haute résolution et l'immunoblot qui permettent de descendre le seuil de sensibilité très bas. La question de la signification clinique de ces « pics » reste alors très discutable.

L'apparition de ces pics serait relativement précoce, dans les 6 mois suivant la greffe (Chakalarovski, Lang et al. 1992) et dans la plupart des cas, transitoire. Un bilan pré-greffe, ainsi qu'une surveillance à J0, 6 mois et 1 an sont réalisés dans le service de néphrologie. Ceci explique que le nombre de dossiers reçus en biochimie soit donc assez conséquent.

Plusieurs facteurs de risque semblent être associés à l'émergence de ces anomalies (Cakalaroski, Ivanovski et al. 2000):

- l'âge des patients (> 50 ans)
- la durée de l'hémodialyse
- l'intensité du traitement immunosuppresseur, la prise de Ciclosporine
- la présence d'infections (EBV, CMV)

Une équipe à Lyon s'est penchée plus particulièrement sur le rôle de ces herpes virus dans le développement d'anomalies monoclonales en post-greffe (Drouet, Chapuis-Cellier et al. 1999).

Ils retrouvent des profils oligoclonaux dans 25% des cas (21 patients sur 84). Or, sur 23 patients coinfectés EVB / CMV, 20 présentent ce type de profil.

Leurs résultats montrent donc une association significative entre la présence combinée d'une infection à CMV et d'une réactivation à EBV, et l'émergence de clones cellulaires de type B sécrétant des Ig oligoclonales.

Etant donné que les greffés (non spécifique du rein) ont un risque accru de développer un lymphome de type B, ou plus rarement un myélome multiple (Touchard, Padeloup et al. 1997), est-ce que ces anomalies oligoclonales ne déterminent pas un état transitoire avant l'émergence d'un unique clone cellulaire ?

Les conséquences cliniques à long terme restent difficiles à évaluer, notamment du fait d'un manque de suivi des patients après une à deux années.

D - 4 Cardiologie

Les résultats de cardiologie montrent une proportion importante d'anomalies bi et oligoclonales (> 24%), mais peu d'IgA et aucune GM à chaînes légères libres.

De la même façon qu'en néphrologie, on peut supposer que les bilans de suivi de greffes expliquent en partie ces valeurs. En effet, plusieurs études ont observé la présence de bandes multiples à l'électrophorèse : 63% des patients pour Monk (Monk, Calvin et al. 1989) et 35% pour Myara (Myara, Quenum et al. 1991). Ce dernier a par ailleurs constaté que le taux de ces anomalies était significativement plus bas chez les patients présentant des épisodes de rejet (probablement en lien avec une immunosuppression thérapeutique moins efficace). Il a alors émis l'hypothèse que l'apparition de ces pics pourrait être un élément prédictif dans la survenue d'un rejet de greffe.

Il faut aussi signaler que les complications cardiaques peuvent être un point d'appel au diagnostic d'une GM. En effet, certaines d'entre elles dont l'amylose AL, la LCDD ou la HCDD peuvent induire des troubles tels que des arythmies, des fibrillations auriculaires ou une hypertrophie ventriculaire (Toor, Ramdane et al. 2006). Rappelons que les cardiomyopathies sont les premières causes de décès de ces patients et que le pronostic des LCDD et HCDD est lié à la coexistence ou non d'un MM (Dispenzieri and Kyle 2005). Ces manifestations demeurent toutefois assez rares. Aucune anomalie isolée de type chaînes légères libres et / ou lourdes, n'a d'ailleurs été détectée dans ce service.

D - 5 Rhumatologie, Neurologie, Dermatologie

Contrairement aux précédents services cliniques, et pour les mêmes raisons que l'hématologie ou la médecine, il nous semble difficile ici, compte tenu de la grande diversité de pathologies pour lesquelles il est possible de détecter des anomalies monoclonales, de relier nos résultats à des situations cliniques précises. En conséquence, nous avons privilégié une approche globale, en résumant par spécialité, les principales pathologies associées à des « pics » mono, bi ou oligoclonaux.

◆ Rhumatologie

Pathologie	Type d'anomalie / étiologie
• Polyarthrite rhumatoïde	IgM anti-IgG (FR)
• Polyarthralgies, myalgies	CM
• Tassements vertébraux, Fractures osseuses	IgG, IgA (MM) ou chaînes légères libres, IgD, IgE

◆ Neurologie

Pathologie	Type d'anomalie / étiologie
• Neuropathies périphériques	MGUS, MM, MW, Amylose AL, POEMS syndrome, CM (IgM ++).
• Maladie de Gaucher	MGUS

◆ Dermatologie

Pathologie	Type d'anomalie / étiologie
• Maladie des agglutinines froides	MW
• Purpura vasculaire	MW, CM, Amylose AL
• LED	CM (IgM ++)
• Sd de Gougerot-Sjögren	CM (IgM ++)
• Xanthomatose plane	IgG
• Pyoderma gangrenosum	IgA
• Cancer de la peau (traitement)	Ig mono, bi ou oligoclonale

Cette liste n'est pas exhaustive mais témoigne de la diversité des pathologies pouvant être liés à la sécrétion d'une ou plusieurs IgMc. Dans la majeure partie des cas, ce sont des MGUS dont l'expression clinique est souvent la conséquence d'une propriété particulière de l'IgMc : caractère cryoprécipitant ou activité auto-anticorps. Les principales complications des GM malignes sont également répertoriées.

Cette dernière partie nous a permis de mettre l'accent sur quelques services cliniques, dont la répartition des Ig présentait certaines particularités. Néanmoins, il est important de rappeler que, sans le dossier clinique de chaque patient, notre argumentation sur les pathologies associées n'est basée que sur des données de la littérature ou l'expérience du laboratoire, et peut de ce fait être discutable. Il est évident que l'association des éléments biologiques au contexte clinique aurait constitué un apport très enrichissant d'informations. Ceci n'a pas été possible en raison du nombre très important de dossiers analysés.

CONCLUSION

Cette étude a été l'occasion d'exploiter des données biologiques, recueillies depuis plus de 25 ans par le laboratoire de biochimie, et de les comparer avec les résultats obtenus en 1991, ainsi qu'avec ceux publiés dans de nombreuses études. Il est important de rappeler que le fichier que nous avons utilisé est évolutif, et donc que les données analysées fin 2006 sont le reflet de la répartition des IgMc à cette date.

Ce travail nous a permis de confirmer certaines particularités déjà mises en évidence dans les années 80, notamment le fort pourcentage des IgM, et d'autres, d'apparition plus récente, comme les profils multibandes (bi ou oligoclonaux).

L'amélioration des techniques depuis 25 ans, l'émergence de nouvelles pathologies (VIH, VHC), ainsi que le développement des greffes et des traitements immunosuppresseurs, peut expliquer en partie les différences de profils constatées entre 1991 et 2006 à Nantes.

En effet, l'évolution de la biologie, avec l'apparition de méthodes toujours plus sensibles (IF, dosage des CLL), associée à l'évolution des pratiques médicales (nouveaux protocoles de traitement et de suivi, électrophorèse systématisée dans certains services), jouent probablement un rôle prédominant sur la mise en évidence de ces nouvelles anomalies.

Par ailleurs, l'importance de notre cohorte a constitué un atout majeur pour l'obtention de résultats représentatifs de la population des Pays de la Loire. En revanche, en voulant réaliser notre étude sur l'ensemble des patients répertoriés, nous nous sommes heurtés à la difficulté d'y associer les diagnostics cliniques. En conséquence, nous n'avons pas pu discuter de certains aspects de la répartition des Ig au sein de chaque service en fonction des différentes pathologies. Néanmoins, les variations inter-services que l'on a pu observer, confirment l'existence d'une grande diversité de contextes cliniques associés à la présence d'anomalies monoclonales.

Enfin, la concentration de l'IgMc, ainsi que les résultats de l'exploration des protéines urinaires, auraient pu apporter des informations complémentaires à notre étude. Il serait également intéressant de pouvoir compléter ce fichier de données cliniques, pour une exploitation ultérieure davantage ciblée sur une GM précise (le MM par exemple).

ANNEXE

Annexe 1 : Extrait du tableau Excel du laboratoire	74
Annexe 2 : Extrait du tableau Excel global	75

Annexe 1 : Extrait du tableau Excel du laboratoire

Nom	Prénom	IPP	Pathologie	Date de naissance
		014257300	AK	24.06.1930
		008933365	MK	01.03.1912
		004147441	ML	19.10.1936
		014460949	AK	01.01.1951
		002627210	MK	30.04.1931
		000423897	LL	05.06.1916
		003961840	AK	20.08.1920
		006216760	GL - ML	14.04.1935
		000046522	GK	10.01.1950
		013163766	MK - ML	26.01.1925
		016093565	MK - GK	02.08.1961
		OOO804438	AL	26.06.1920
		016521283	GK - GL	24.05.1916
		002613816	O	27.06.1920
		O10984981	MK	08.06.1943
		OO4181825	MK - GK	18.02.1928
		0001135898	GL	11.11.1928
		OO1554813	GL	03.04.1949
		OO6626478	MK	29.05.1939
		OO1321189	GK - MK	23.05.1927
		O10503609	MK	25.01.1922
		OO8145222	GL	04.05.1920
		003747964	GL	14.10.1931
		009789231	ML	27.02.1915
		000667144	MK	04.02.1932
		005228946	MK	03.07.1922
		OO2111793	GK	30.07.1914
		O11165840	O	08.02.1956
		OO3497970		27.03.1939
		O14664858	AK	23.09.1950
		OO1880250	GK	31.01.1931
		008793186	GK	09.05.1941
		OO6671010	O	27.06.1970

Annexe 2 : Extrait du tableau Excel global

NOM	PRENOM	SEXE	DATE DE NAISSANCE	ANNEE DE NAISSANCE	AGE AU MOMENT DU DIAGNOSTIC	DATE DU DIAGNOSTIC	TYPE	IPP	Service
		1	19/04/1960	1960	42	2002	LL	O14233798	1161
		1	24/06/1930	1930	74	2004	AK	014257300	1111
		1	11/02/1951	1951	52	2003	AK	014460949	3915
		2	20/08/1920	1920	78	1998	AK	003961840	1160
		1	23/09/1950	1950	52	2002	AK	O14664858	1214
		1	02/12/1939	1939	62	2001	AK	O13881657	3917
		2	23/03/1924	1924	68	1992	AK	OO5647494	3917
		1	27/06/1926	1926	72	1998	AK	OO1028752	1920
		1	15/02/1933	1933	69	2002	AK	014084574	3913
		2	20/09/1924	1924	76	2000	AK	O10617018	1022
		1	05/06/1935	1935	62	1997	AK	OO1484263	1024
		2	21/08/1920	1920	84	2004	AK	012812820	6620
		2	27/08/1940	1940	59	1999	AK	O11394495	2032
		2	22/01/1922	1922	79	2001	AK	OO2428086	1061
		2	06/07/1923	1923	74	1997	AK	OO3583845	1071
		2	05/02/1928	1928	71	1999	AK	O11178762	1161
		1	26/08/1929	1929	60	1989	AK	OO2103150	1412
		1	21/04/1933	1933	67	2000	AK	OOO718143	1041
		2	16/07/1918	1918	84	2002	AK	014061025	1071
		2	09/01/1933	1933	61	1994	AK	OO6948044	3917
		2	14/09/1940	1940	56	1996	AK	OO9944345	3913
		1	24/01/1911	1911	89	2000	AK	OO3468304	1071
		1	06/05/1923	1923	83	2006	AK	004549591	3412
		1	13.06.1929	1929	65	1994	AK	OO7536585	3915
		2	12/12/1912	1912	92	2004	AK	OO2573879	6620
		1	19/05/1936	1936	62	1998	AK	OOO102543	1512
		2	07/01/1941	1941	58	1999	AK	O11531188	3915
		2	08/08/1940	1940	61	2001	AK	013955323	3913
		2	12/05/1921	1921	83	2004	AK	O15513563	1041

BIBLIOGRAPHIE

- Abraham, R. S., J. A. Katzmman, et al. (2003). "Quantitative analysis of serum free light chains. A new marker for the diagnostic evaluation of primary systemic amyloidosis." Am J Clin Pathol **119**(2): 274-8.
- Aguzzi, F., M. R. Bergami, et al. (1992). "Occurrence of monoclonal components in general practice: clinical implications." Eur J Haematol **48**(4): 192-5.
- Ameis, A., H. S. Ko, et al. (1976). "M components-a review of 1242 cases." Can Med Assoc J **114**(10): 889-92, 895.
- Andreone, P., A. Gramenzi, et al. (1996). "Monoclonal gammopathy in patients with chronic hepatitis C virus infection." Blood **88**(3): 1122.
- Andreone, P., A. L. Zignego, et al. (1998). "Prevalence of monoclonal gammopathies in patients with hepatitis C virus infection." Ann Intern Med **129**(4): 294-8.
- Axelsson, U., R. Bachmann, et al. (1966). "Frequency of pathological proteins (M-components) om 6,995 sera from an adult population." Acta Med Scand **179**(2): 235-47.
- Blade, J. (2006). "Clinical practice. Monoclonal gammopathy of undetermined significance." N Engl J Med **355**(26): 2765-70.
- Blade, J., A. Lopez-Guillermo, et al. (1992). "Malignant transformation and life expectancy in monoclonal gammopathy of undetermined significance." Br J Haematol **81**(3): 391-4.
- Bossuyt, X., A. Bogaerts, et al. (1998). "Detection and classification of paraproteins by capillary immunofixation/subtraction." Clin Chem **44**(4): 760-4.
- Bradwell, A. R., H. D. Carr-Smith, et al. (2003). "Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma." Lancet **361**(9356): 489-91.
- Bradwell, A. R., H. D. Carr-Smith, et al. (2001). "Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine." Clin Chem **47**(4): 673-80.
- Brouet, J. C., J. P. Clauvel, et al. (1974). "Biologic and clinical significance of cryoglobulins. A report of 86 cases." Am J Med **57**(5): 775-88.
- Cakalaroski, K., N. Ivanovski, et al. (2000). "[Mono- and oligoclonal immunoglobulin anomalies in kidney transplant patients]." Ann Urol (Paris) **34**(5): 340-4.
- Canafax, D. M. and N. L. Ascher (1983). "Cyclosporine immunosuppression." Clin Pharm **2**(6): 515-24.
- Cesana, C., C. Klersy, et al. (2002). "Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma." J Clin Oncol **20**(6): 1625-34.

- Chakalarovski, C., P. Lang, et al. (1992). "Monoclonal immunoglobulins in patients with renal transplants: characterization, evolution and risk factors." Transpl Int **5 Suppl 1**: S23-5.
- Creysse, R., A. Gibaud, et al. (1975). "The frequency distribution of heavy chain classes and light chain types of 1,000 monoclonal immunoglobulins." Biomedicine **22**(1): 41-8.
- Dcaux, O., P. Rodon, et al. (2007). "[Epidemiology of monoclonal gammopathy in a general hospital and a university internal medicine department]." Rev Med Interne **28**(10): 670-6.
- Dimopoulos, M. A. and A. Anagnostopoulos (2005). "Waldenstrom's macroglobulinemia." Best Pract Res Clin Haematol **18**(4): 747-65.
- Dispenzieri, A. and R. A. Kyle (2005). "Multiple myeloma: clinical features and indications for therapy." Best Pract Res Clin Haematol **18**(4): 553-68.
- Drayson, M., L. X. Tang, et al. (2001). "Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma." Blood **97**(9): 2900-2.
- Drouet, E., C. Chapuis-Cellier, et al. (1999). "Oligo-monoclonal immunoglobulins frequently develop during concurrent cytomegalovirus (CMV) and Epstein-Barr virus (EBV) infections in patients after renal transplantation." Clin Exp Immunol **118**(3): 465-72.
- Duc, J., B. Morel, et al. (1988). "Identification of monoclonal gammopathies: a comparison of immunofixation, immunoelectrophoresis and measurements of kappa- and lambda-immunoglobulin levels." J Clin Lab Immunol **26**(3): 141-6.
- Ducasse (1991). Les gammopathies bclonales: étude biologique et corrélation clinique à propos de 64 observations. Nantes, UFR de médecine et techniques médicales.
- Dugue, M., F. Rousselet, et al. (1971). "[Biological studies of 559 cases of paraproteinemia]." Clin Chim Acta **33**(1): 75-86.
- Fine, J. M. and P. Lambin (1975). "Distribution of heavy chain classes and light chain types in 757 cases of monoclonal gammopathies." Biomedicine **23**(8): 323-7.
- Galossi, A., R. Guarisco, et al. (2007). "Extrahepatic manifestations of chronic HCV infection." J Gastrointestin Liver Dis **16**(1): 65-73.
- Gertz, M. A., G. Merlini, et al. (2004). "Amyloidosis and Waldenstrom's macroglobulinemia." Hematology Am Soc Hematol Educ Program: 257-82.
- Giraldo, P., D. Rubio-Felix, et al. (1994). "[Incidence, clinico-biological characteristics, and clinical course of 1,203 monoclonal gammopathies (1971-1992)]." Sangre (Barc) **39**(5): 343-50.
- Giraldo, P., D. Rubio-Felix, et al. (1994). "[Transient monoclonal gammopathies. Study of 34 cases]." Sangre (Barc) **39**(5): 351-5.
- Gregersen, H., L. Mellemkjaer, et al. (2000). "Cancer risk in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance." Am J Hematol **63**(1): 1-6.

- Greipp, P. R., J. San Miguel, et al. (2005). "International staging system for multiple myeloma." J Clin Oncol **23**(15): 3412-20.
- Guida, M., G. D'Elia, et al. (2002). "Hepatitis C virus infection in patients with B-cell lymphoproliferative disorders." Leukemia **16**(10): 2162-3.
- Herrera, G. A. (2000). "Renal manifestations of plasma cell dyscrasias: an appraisal from the patients' bedside to the research laboratory." Ann Diagn Pathol **4**(3): 174-200.
- Hurez, D., P. Youinou, et al. (1985). "Survey of monoclonal gammopathy in western France: incidence and unexpected high frequency of IgM." Immunology **56**(3): 557-60.
- Jaskowski, T. D., C. M. Litwin, et al. (2006). "Detection of kappa and lambda light chain monoclonal proteins in human serum: automated immunoassay versus immunofixation electrophoresis." Clin Vaccine Immunol **13**(2): 277-80.
- Jolliff, C. R. and C. R. Blessum (1997). "Comparison of serum protein electrophoresis by agarose gel and capillary zone electrophoresis in a clinical setting." Electrophoresis **18**(10): 1781-4.
- Katzmann, J. A., R. J. Clark, et al. (2002). "Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains." Clin Chem **48**(9): 1437-44.
- Kohn, J. (1957). "A cellulose acetate supporting medium for zone electrophoresis." Clin Chim Acta **2**(4): 297-303.
- Kyle, R. A. (1975). "Multiple myeloma: review of 869 cases." Mayo Clin Proc **50**(1): 29-40.
- Kyle, R. A. (1978). "Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Natural history in 241 cases." Am J Med **64**(5): 814-26.
- Kyle, R. A. (1994). "The monoclonal gammopathies." Clin Chem **40**(11 Pt 2): 2154-61.
- Kyle, R. A., S. Finkelstein, et al. (1972). "Incidence of monoclonal proteins in a Minnesota community with a cluster of multiple myeloma." Blood **40**(5): 719-24.
- Kyle, R. A. and P. R. Greipp (1978). "3. The laboratory investigation of monoclonal gammopathies." Mayo Clin Proc **53**(11): 719-39.
- Kyle, R. A. and S. V. Rajkumar (2005). "Monoclonal gammopathies of undetermined significance." Best Pract Res Clin Haematol **18**(4): 689-707.
- Kyle, R. A. and S. V. Rajkumar (2006). "Monoclonal gammopathy of undetermined significance." Br J Haematol **134**(6): 573-89.
- Kyle, R. A., T. M. Therneau, et al. (2006). "Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance." N Engl J Med **354**(13): 1362-9.
- Kyle, R. A., T. M. Therneau, et al. (2002). "A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance." N Engl J Med **346**(8): 564-9.

- Le Carrer, D. (1994). Immunofixation des protéines sériques: signification clinique des profils immunitaires oligoclonaux. Revue française des laboratoires.
- Legras, B., M. Gaudin, et al. (1984). "[Critical review of 243 monoclonal immunoglobulinopathies]." Ann Biol Clin (Paris) **42**(3): 211-6.
- Lopez, J., O. Dauwalder, et al. (2006). "[Interest and limit of a free light chain immunoassay in serum and urine for the diagnosis and the follow-up of monoclonal dysglobulinemia]." Ann Biol Clin (Paris) **64**(3): 287-97.
- Makni, S., R. Zouari, et al. (1990). "[Monoclonal gammopathies in Tunisia]." Rev Fr Transfus Hemobiol **33**(1): 31-8.
- Merlini, G. and C. Pozzi (2007). "Mechanisms of renal damage in plasma cell dyscrasias: an overview." Contrib Nephrol **153**: 66-86.
- Monk, J., J. Calvin, et al. (1989). "Oligoclonal banding in serum from heart-transplant recipients." Clin Chem **35**(3): 431-4.
- Morra, E. (2005). "Cryoglobulinemia." Hematology Am Soc Hematol Educ Program: 368-72.
- Mseddi-Hdiji, S., S. Haddouk, et al. (2005). "[Monoclonal gammopathies in Tunisia: epidemiological, immunochemical and etiological analysis of 288 cases]." Pathol Biol (Paris) **53**(1): 19-25.
- Muller, A. M., A. Geibel, et al. (2006). "Primary (AL) amyloidosis in plasma cell disorders." Oncologist **11**(7): 824-30.
- Mussini, C., M. Ghini, et al. (1995). "Monoclonal gammopathies and hepatitis C virus infection." Blood **85**(4): 1144-5.
- Myara, I., G. Quenum, et al. (1991). "Monoclonal and oligoclonal gammopathies in heart-transplant recipients." Clin Chem **37**(8): 1334-7.
- Ogmundsdottir, H. M., V. Haraldsdottir, et al. (2002). "Monoclonal gammopathy in Iceland: a population-based registry and follow-up." Br J Haematol **118**(1): 166-73.
- Ong, F., J. Hermans, et al. (1997). "A population-based registry on paraproteinaemia in The Netherlands. Comprehensive Cancer Centre West, Leiden, The Netherlands." Br J Haematol **99**(4): 914-20.
- Parise, E. R., A. C. de Oliveira, et al. (2007). "Cryoglobulinemia in chronic hepatitis C: clinical aspects and response to treatment with interferon alpha and ribavirin." Rev Inst Med Trop Sao Paulo **49**(2): 67-72.
- Peltier, A. P. (1974). "[Immunoglobulins and dysglobulinemias. Introduction and general data]." Rev Rhum Mal Osteoartic **41**(10): 557-71.
- Perrone, A., M. T. Deramo, et al. (2001). "Hepatitis C virus (HCV) genotypes, human leucocyte antigen expression and monoclonal gammopathy prevalence during chronic HCV infection." Cytobios **106 Suppl 1**: 125-34.

- Pontet, F. (2005). "A data base for 3000 monoclonal immunoglobulin cases and a new classification." Clin Chim Acta **355**(1-2): 13-21.
- Pozzi, C. and F. Locatelli (2002). "Kidney and liver involvement in monoclonal light chain disorders." Semin Nephrol **22**(4): 319-30.
- Radl, J., R. M. Valentijn, et al. (1985). "Monoclonal gammopathies in patients undergoing immunosuppressive treatment after renal transplantation." Clin Immunol Immunopathol **37**(1): 98-102.
- Rajkumar, S. V., R. A. Kyle, et al. (2004). "Presence of monoclonal free light chains in the serum predicts risk of progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance." Br J Haematol **127**(3): 308-10.
- Roccatello, D., A. Fornasieri, et al. (2007). "Multicenter study on hepatitis C virus-related cryoglobulinemic glomerulonephritis." Am J Kidney Dis **49**(1): 69-82.
- Saadoun, D., D. A. Landau, et al. (2007). "Hepatitis C-associated mixed cryoglobulinaemia: a crossroad between autoimmunity and lymphoproliferation." Rheumatology (Oxford) **46**(8): 1234-42.
- Saleun, J. P., M. Vicariot, et al. (1982). "Monoclonal gammopathies in the adult population of Finistere, France." J Clin Pathol **35**(1): 63-8.
- San Miguel, J. F. and R. Garcia-Sanz (2005). "Prognostic features of multiple myeloma." Best Pract Res Clin Haematol **18**(4): 569-83.
- Segoloni, G. P., F. Giacchino, et al. (1990). "Immunoglobulin abnormalities in transplant patients: a method for typing monoclonal immunoglobulins." Transplant Proc **22**(4): 1867-8.
- Silvestri, F. and M. Bacarani (1997). "Hepatitis C virus-related lymphomas." Br J Haematol **99**(3): 475-80.
- Toor, A. A., B. A. Ramdane, et al. (2006). "Cardiac nonamyloidotic immunoglobulin deposition disease." Mod Pathol **19**(2): 233-7.
- Touchard, G., T. Padeloup, et al. (1997). "High prevalence and usual persistence of serum monoclonal immunoglobulins evidenced by sensitive methods in renal transplant recipients." Nephrol Dial Transplant **12**(6): 1199-203.
- Vijay, A. and M. A. Gertz (2007). "Waldenstrom macroglobulinemia." Blood **109**(12): 5096-103.
- Wahner-Roedler, D. L. and R. A. Kyle (2005). "Heavy chain diseases." Best Pract Res Clin Haematol **18**(4): 729-46.
- Wahner-Roedler, D. L., T. E. Witzig, et al. (2003). "Gamma-heavy chain disease: review of 23 cases." Medicine (Baltimore) **82**(4): 236-50.

- Whicher, J. T., M. Wallage, et al. (1987). "Use of immunoglobulin heavy- and light-chain measurements compared with existing techniques as a means of typing monoclonal immunoglobulins." Clin Chem **33**(10): 1771-3.
- Yang, Z., K. Harrison, et al. (2007). "Performance of the Sebia CAPILLARYS 2 for detection and immunotyping of serum monoclonal paraproteins." Am J Clin Pathol **128**(2): 293-9.
- Zuckerman, E., T. Zuckerman, et al. (1997). "Hepatitis C virus infection in patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma." Ann Intern Med **127**(6): 423-8.

Nom - Prénoms : GUERIN Anne-Sophie, Madeleine, Bénédicte

**Titre du mémoire-thèse : Etude rétrospective sur les gammopathies monoclonales
dépistées à Nantes depuis 25 ans (cohorte de 7500 patients).**

Résumé du mémoire-thèse :

Le laboratoire de Biochimie de Nantes réalise depuis plus de 25 ans, un suivi longitudinal et actualisé, de tous les patients présentant une anomalie monoclonale sur l'électrophorèse des protéines sériques. Les informations recueillies (nom, prénom, date de naissance, nature du composant monoclonal détecté) constituent le support analytique de notre étude statistique, qui compte fin 2006, plus de 7500 patients originaires en majorité de la région des Pays de la Loire.

Nous avons pu observer plusieurs particularités intéressantes : la forte proportion des IgM monoclonales (>30 %) par rapport aux autres études, les modifications dans la répartition des immunoglobulines monoclonales entre 1991 et 2006 à Nantes, la prédominance masculine de notre cohorte, ainsi que la grande diversité de pathologies associées à des anomalies monoclonales, à la fois malignes et bénignes.

Enfin, nous avons pu constater l'émergence de nouvelles anomalies biologiques, notamment les profils oligoclonaux, pouvant s'expliquer par l'apparition conjointe de certaines pathologies virales (VIH, VHC) et, au cours des années 80-90, d'outils thérapeutiques qui n'existaient pas auparavant (greffes, immunosuppresseurs).

**MOTS CLÉS : GAMMAPATHIE MONOCLONALE, IMMUNOGLOBULINE
MONOCLONALE, PROFILS OLIGOCLONAUX, ELECTROPHORESE, IMMUNOFIXATION.**

JURY

Président : M. Jean-Marie BARD, Professeur de Biochimie, UFR de Pharmacie de Nantes

Assesseurs :

M. Philippe MOREAU, Professeur d'Hématologie clinique, UFR de Médecine de Nantes

M. Patrick LUSTENBERGER, Professeur de Biochimie, UFR de Médecine de Nantes

M. Didier LE CARRER, Praticien Hospitalier, Biochimie, CHU de Nantes

Mme. Laurence LODE, Praticien Hospitalier, Hématologie, CHU de Nantes

Adresse de l'auteur : 26 rue Léon Jamin, 44 000 Nantes