



**LNR**

LABORATOIRE NATIONAL  
DE REFERENCE

Biologie spécialisée - MAROC

# PRISE EN CHARGE BIOLOGIQUE GLOBALE DU MYÉLOME MULTIPLE



UNIVERSITÉ MOHAMMED VI  
DES SCIENCES DE LA SANTÉ  
CASABLANCA

Le myélome multiple représente 10% de l'ensemble des hémopathies malignes et 2% de la mortalité par cancer. Depuis la mise en place du Laboratoire national de référence (LNR), nous avons mis en place un pôle d'excellence de prise en charge biologique et génétique des myélomes multiples selon les recommandations internationales. Depuis, de nombreux cliniciens des secteurs publics et privés nous ont confié la prise en charge globales des actes indispensables pour le diagnostic et le suivi des myélomes multiples et MGUS de leurs patients. Pour cela, nous nous efforçons de réunir l'ensemble de l'expertise indispensable pour la bonne réalisation de ces analyses spécialisées sur une plateforme unique, facilitant ainsi la prise en charge du diagnostic et thérapeutique pour les cliniciens. L'enjeu principal étant de définir la meilleure stratégie nationale au Maroc face à ces pathologies, en particulier pour le Myélome Multiple symptomatique.

## Le diagnostic biologique du myélome multiple repose sur une triade :

- La présence d'une immunoglobuline monoclonale.
- Une plasmocytose médullaire.
- Des manifestations clinico-biologiques d'une atteinte viscérale (les critères CRAB : hypercalcémie, atteinte rénale, anémie et atteinte osseuse).

## Le bilan paraclinique initial doit permettre de répondre à plusieurs objectifs :

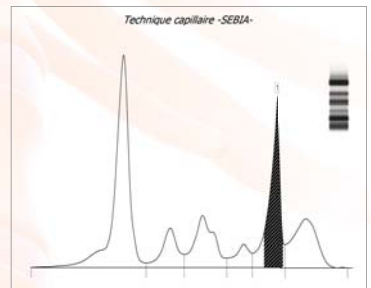
Confirmer le diagnostic, évaluer le pronostic et disposer de paramètres permettant d'évaluer la réponse thérapeutique selon les recommandations de l'HAS et de l'IMWG « International Myeloma Working Group ».

Ce document centralise l'ensemble des analyses proposées par le LNR pour la prise en charge du myélome multiple.

## Exploration des dysglobulinémies

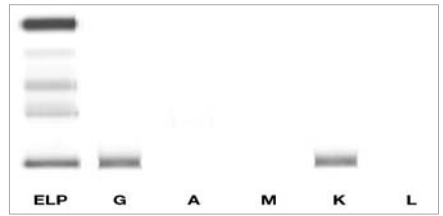
### Electrophorèse capillaire des protéines sériques :

Recherche d'une immunoglobuline monoclonale caractérisée par la présence d'un pic étroit (présent dans 80% des cas). Migration dans les zones gamma-globulines, béta-globulines ou alpha-globulines (plus rare). La quantification est réalisée par intégration orthogonale du pic, elle est nécessaire au diagnostic ainsi que pour l'évaluation de la réponse au traitement et la détection d'une éventuelle rechute.

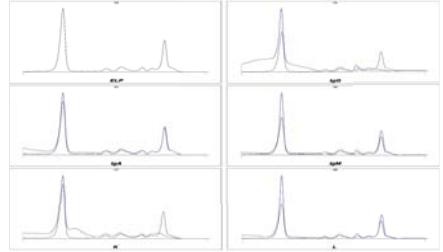


## Immunofixation des protéines sériques :

**Electrophorèse capillaire et sur gel d'agarose**, permettant la confirmation du caractère monoclonal et la détermination de l'isotype (anti-sérums gamma, mu, alpha, kappa et lambda) Un pré-traitement par 2-mercaptoéthanol est notamment utilisé pour la **dépolymérisation des IgM**.



Présence d'une protéine monoclonale, de type IgG Kappa



2 bandes monoclonales révélées par les anti-IgG et anti-Kappa avec quasi-disparition des IgA et IgM.

## Dosage des chaînes légères libres sériques d'immunoglobulines avec détermination du ratio kappa/lambda :

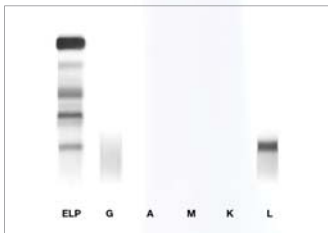
Ce test est recommandé pour le diagnostic et le suivi de la réponse au traitement des maladies à chaînes légères libres et des myélomes non ou pauci-sécrétants. La normalisation du ratio kappa/lambda définit un nouveau stade de réponse au traitement.

## Electrophorèse des protéines urinaires réalisée sur gel d'agarose :

Permettant de reconnaître le type d'une protéinurie, glomérulaire sélective ou non sélective, tubulaire et de rechercher une protéinurie monoclonale et surtout des chaînes légères.

## Immunofixation des protéines urinaires :

Sur gel d'agarose, la recherche de la protéinurie de Bence-Jones permet la mise en évidence les chaînes légères libres monoclonales urinaires.



Présence d'un Myélome à chaine légères Lambda avec l'excrétion minimale d'IgG polyclonales et l'excrétion de résidu de chaînes Lambda polyclonale

## Dosage pondéral des immunoglobulines :

Par turbidimétrie, il permet de déterminer le statut des autres immunoglobulines monoclonales.

## Recherche de cryoglobuline :

Pour mettre en évidence la propriété cryoprécipitante éventuelle du composant monoclonal.

## Tests Hevylite® :

Ce test permet le dosage des paires de chaînes lourdes et légères d'immunoglobulines avec calcul du rapport entre le composant monoclonal et les immunoglobulines résiduelles de la même classe. Ce dosage est intéressant pour quantifier les IgA qui migrent dans la zone électrophorétique des  $\beta$ -globulines et dont la quantification par intégration du pic est difficile. Un ratio anormal serait prédictif d'une survie sans progression plus courte.

## Dosage conjoint de la bêta-2 microglobuline et de l'albuminémie :

Pour la détermination de l'R-ISS (Revised International Staging System), outil d'évaluation pronostique recommandé selon le consensus de l'IMWG (International Myeloma Working Group).

**Stade I Critères :** Si tous les paramètres suivants sont observés

- Serumalbumin  $\geq$  3,5 g/dL
- Serum beta-2-microglobulin < 3,5 mg/L
- Absence d'anomalie cytogénétique de haut risque
- Taux lactate déshydrogénasesérique normal

**Stade II Critères :** Ni I ni III

**Stade III Critères :** l'un ou l'autre des critères suivants est présent

- Serum beta-2-microglobulin > 5,5 mg/L
- Anomalie cytogénétique de haut risque [t(4 ;14), t(14 ;16) or del(17p) ou taux élevé lactatedehydrogenase sérique

## Dosage de la créatinémie :

Insuffisance rénale : causes multiples (obstructives, fonctionnelle, organique).

## Hypercalcémie :

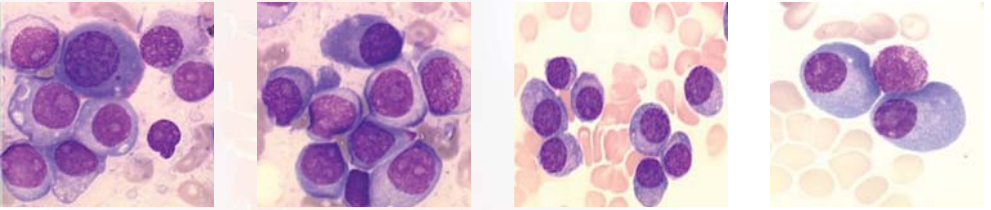
Plasmocytes sécrètent ou induisent la sécrétion de : Cytokines (IL-6, IL-1b, TNF $\alpha$ , MIP1a), croissance et recrutement des ostéoclastes => hyperrésorption osseuse.

# Cytologique et immunophénotypage

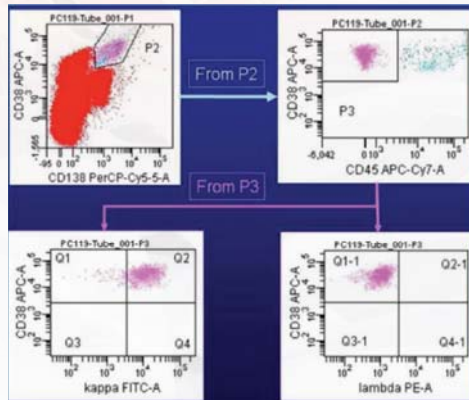
• **Formule sanguine** : recherche de plasmocytes sur frottis sanguin et de rouleaux érythrocytaires. 15% des patients atteints de myélome présentent 1 à 3% de plasmocytes circulants. Dans 2 % des cas, on observe une leucémie à plasmocytes (plasmocytes > 2 G/L ou > 20%).

• **Myélogramme** : permet d'établir le diagnostic en mettant en évidence une infiltration médullaire (> 10% de plasmocytes souvent dystrophiques).

• **Plasmocytes dystrophiques** : aspect souvent hétérogène, plasmocytes de grande taille, gigantisme, rapport nucléo-cytoplasmique élevé, anomalies nucléaires (perte de la structure mottée, présence de nucléole), anomalies cytoplasmiques (aspect parfois inhomogène du cytoplasme, présence d'inclusions).



• **Immunophénotypage** : il permet la confirmation de la nature plasmocytaire par l'utilisation des marqueurs CD38 CD138, la détermination du caractère monotypique des plasmocytes étudiés ainsi que l'étude des marqueurs pronostics CD56, CD117 et D19, ratio plasmocytes pathologiques/plasmocytes totaux.

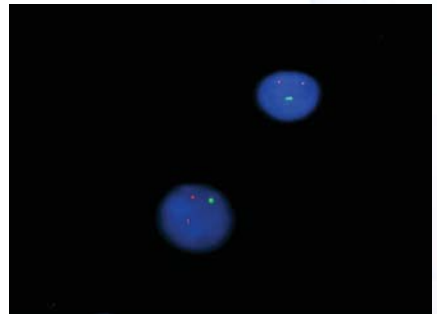
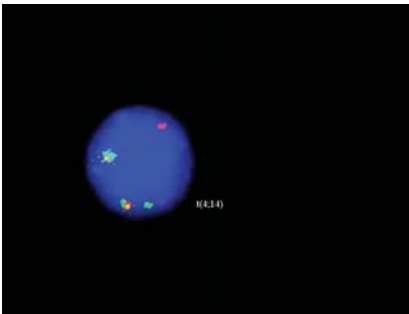


# Etude cytogénétique des myélomes :

Deux buts principaux : Evaluer le pronostic et déterminer la stratégie thérapeutique.

• **FISH sur plasmocytes triés CD138+** : Examen cytogénétique de première intention, le tri sélectif des plasmocytes par billes magnétiques CD138, permet de réaliser la technique d'Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH) sur préparations interphasiques de plasmocytes purifiés. Certaines anomalies chromosomiques stéréotypées de myélome ont une valeur pronostique et thérapeutique importante. Ex.[ Sondes P53 (17p13), LS13 RB1 (13q14), IGH/FGFR3 t(4;14), IGH (14q32), IGH/CCND1t(11;14), IGH/MAF t(14;16), CKS1B/CDKN2C(P18) amplification 1q/délétion 1p, étude de ploïdie des chromosomes 5,9,15, recherche amplification 5q, le réarrangement de c-MYC (8q24).

Purification magnétique des plasmocytes **CD138+** à partir de la moelle totale



FISH réalisée sur les plasmocytes purifiés par des billes magnétiques CD138+, sondes spécifiques de t(4;14) et la délétion TP53 chromosome 17.

• **Caryotype médullaire** : Reflet de la prolifération plasmocytaire, le caryotype médullaire permet de mettre en évidence des anomalies chromosomiques clonales plus particulièrement dans le cas des myélomes à un stade avancé. Elle permet également de mettre en évidence parfois les patients avec double pathologie au diagnostic (MM/ SMP ou MM/ SLP).

**Les anomalies chromosomiques les plus fréquemment observées dans le cas de myélome sont:**

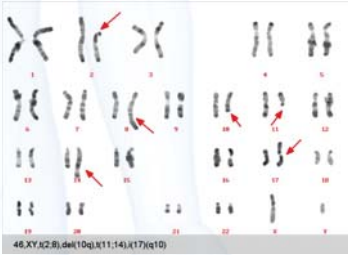
- Caryotype hyperdiploïde (50-55% des cas): gains non aléatoires des chromosomes impaires 3,5,7,9,11,15,19 et 21 sans anomalie chromosomique de structure associée, est considéré comme facteur de pronostic favorable.



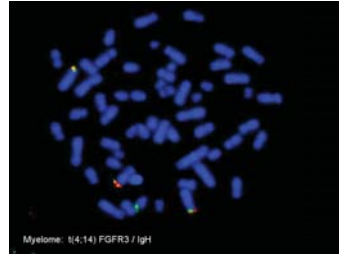
- Caryotype hypodiploïde, monosomies des chromosomes 13, 14, 16 et 21 observées dans le cas de myélome souvent associées à des anomalies de structure, est considéré comme facteur de pronostic défavorable.

- Caryotype avec des anomalies de structure, impliquant fréquemment les loci IGH en 14q32, [t(4;14), t(14;16),...], délétion P53 en 17p13, les chromosomes 1 (amplification 1q et délétion 1p) et ...

L'index mitotique faible des plasmocytes est un facteur limitant d'obtention d'anomalie chromosomique en culture, nécessitant ainsi des cultures longues (72 ou 96H) pour favoriser la division cellulaire des plasmocytes et l'obtention de mitoses.



Caryotype complexe présentant une translocation t(11;14)



FISH, mise en évidence d'une translocation t(4;14)

A : Exemple de caryotype complexe et hypodiploïde avec anomalies chromosomiques clonales de nombre et de structure compatibles

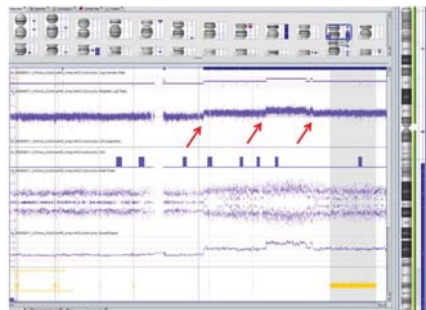
B : Exemple FISH sur métaphase présence de translocation t(4;14).

#### •Puce ADN, SNP ArrayPangenomic :

L'extraction de l'ADN à partir de tri sélectif des plasmocytes CD138+, permet de réaliser une étude de haute résolution pangénomique sur puce à ADN, (SNP-array) ou Cytoscan HD array, contribuant ainsi à la détection des anomalies de nombre de copies d'un gène/région chromosomique (délétion, gains, amplifications ...) et de mieux préciser le pronostic du myélome multiple. Une étude de Genome-wide association study (GWAS) en 2015 a mis en évidence une association significative entre les polymorphismes du locus FOPNL sur le chromosome 16p13 et la survie des patients atteints de MM.

Ces données ont permis d'améliorer davantage la stratification pronostique et la décision thérapeutique chez des patients présentant un myélome.

Caryotype Moléculaire SNP Array  
dup(11)(q13.3q25),amp(11)  
(q14.3q33q22.3)



## Contacts :

### CYTOLOGIE ET IMMUNOPHÉNOTYPAGE:

**Fadwa Ousti**

Email : fadwa.ousti@lnr.ma

Tél. : 0600067193

**Meriem Haouane**

Email :meriem.haouane@lnr.ma

Tél. : 0602265153

### ETUDE DES DYSGLOBULINÉMIES :

**Jalila EL Bakkouri**

Email : j.elbakkouri@fckm-hck.ma

Tél. : 0608873715

**Imane Smyej**

Email : imane.smyej@lnr.ma

Tél. : 0600067253

### GÉNÉTIQUE :

**Hossein Mossafa**

Email : hossein.mossafa@lnr.ma

Tél. : 0600069675

**Faiza Chbel**

Email :faiza.chbel@lnr.ma

**Houda Benrahma**

Email : houda.benrahma@lnr.ma

**Karim Ouldin**

Email : karim.ouldin@lnr.ma

Tél : 0600067351

