

## L'électrophorèse des protéines sériques

Ce document a été rédigé dans le but de vous faire mieux comprendre un test de laboratoire appelé : "Electrophorèse des protéines sériques" (EPS). Après la lecture de ce document vous devriez être capable de répondre aux questions suivantes :

\* Qu'est ce que l'électrophorèse des protéines sériques ?

\* Pourquoi ce test est-il si précieux pour une personne atteinte de la Macroglobulinémie de Waldenström ?

\* Comment ce test aide-t-il à diagnostiquer la Macroglobulinémie de Waldenström et à en suivre la réponse au traitement ?

Ce document est uniquement destiné à vous fournir des informations générales. Son but n'est pas de remplacer l'avis de votre médecin ou de votre infirmière qui sont les seuls à pouvoir répondre aux questions spécifiques relatives à votre traitement.

Vous trouverez les définitions de tous les mots en caractères **gras** dans le glossaire à la fin du document.

### **Pourquoi l'électrophorèse des protéines sériques est-elle importante ?**

Pourquoi un document concernant **l'électrophorèse des protéines** ? La raison principale est que la Macroglobulinémie de Waldenström est caractérisée par la production d'une protéine **monoclonale** unique (**Protéine-M**).

Le test utilisé pour mesurer la quantité de protéine monoclonale dans le sang ou dans les urines est l'électrophorèse des protéines sériques. Cette protéine-M est produite (synthétisée) par des plasmocytes malins (les lymphoplasmocytes).

La quantité de protéines produite est libérée dans le sérum (partie liquide du sang obtenue après élimination des cellules sanguines), et dans certains cas, dans les urines. Elle reflète l'importance de la Macroglobulinémie de Waldenström chez un individu à un moment donné. Cette protéine, libérée dans le sang et les urines, est ainsi appelée **marqueur tumoral** sérique ou urinaire.

Très peu de cancers possèdent un marqueur de ce type qui, dans ce cas, permet d'évaluer l'importance de la maladie au moment du diagnostic initial et de la suivre tout au long de la maladie.. On peut ainsi évaluer une **réponse** à un traitement, le niveau de **rémission** et, éventuellement, la **rechute** d'un patient et ceci en utilisant des chiffres précis, ce qui représente un avantage unique.

Par exemple, nous pouvons déterminer si la réponse est : Partielle (RP = 50% d'amélioration); Très Bonne Réponse Partielle (TBRP = 90% d'amélioration) ou Complète (RC = aucune protéine-M détectée). Nous pouvons aussi identifier une augmentation  $\geq 25\%$  de la quantité de protéine, en d'autres termes, une rechute.

## Quantification de la protéine-M à l'aide de l'électrophorèse

Si la protéine-M, caractéristique de la Macroglobulinémie de Waldenström, est présente dans le sérum, le test d'électrophorèse est alors nommé **Electrophorèse des Protéines Sériques (EPS)**. De même, si la protéine monoclonale se trouve dans les urines, le test qui permet de la mesurer est l'**Electrophorèse des Protéines Urinaires (EPU)**.

Afin de quantifier la protéine monoclonale, nous avons besoin de deux informations :

- \* Quelle est la concentration en protéines totales dans le sérum ou dans les urines ?
- \* Quel est le pourcentage de la protéine monoclonale par rapport aux protéines totales ?

L'information cruciale est obtenue à partir d'une EPS et/ou EPU en calculant la surface du "pic" qui représente la quantité de la protéine monoclonale. En mesurant la surface sous la courbe entre le sommet du pic et la ligne de base du graphe, nous pouvons obtenir le pourcentage de la protéine-M parmi les protéines totales. Par exemple :

- le pic représente 60% des protéines totales
- Protéines totales = 120 grammes/Litre (g/L)
- Concentration du pic : 72 g/L (60% de 120)

La concentration totale des protéines ainsi que le pourcentage de la protéine-M changent au cours du temps.

Toujours pour le même exemple, en réponse à un traitement, le pic peut diminuer jusqu'à 40% et la concentration de protéines totales jusqu'à 90 g/L ce qui nous ramène à un pic de 36 g/L et représente une diminution de plus de 50%, soit une réponse partielle (RP).

Ce type de mesures et d'évaluations en série est une étape clé pour le suivi de la Macroglobulinémie de Waldenström. C'est pourquoi les tests EPS et EPU sont si importants.

Un test complémentaire, l'**immunofixation**, est utilisé afin de déterminer le type de la protéine-M. Ceci est important au moment du diagnostic initial ainsi qu'au moment de la réponse maximale à un traitement. Dans le cas d'une réponse complète (RC), le test d'immunofixation doit être totalement négatif. A savoir, aucune protéine monoclonale ne doit être détectée.

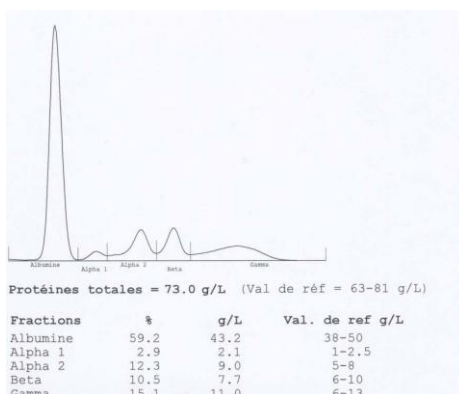


Figure 1. Représentation d'un résultat normal d'électrophorèse des protéines sériques d'un sérum normal.

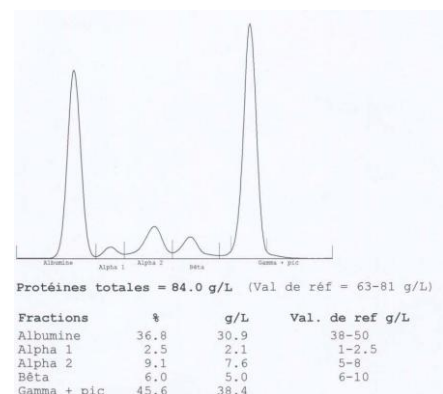


Figure 2. Représentation d'un résultat anormal d'électrophorèse des protéines sériques. Les cellules lymphoplasmocytaires produisent la protéine-M, générant un pic dans la zone des gamma.

## Qu'est-ce qu'une protéine monoclonale ?

Les protéines monoclonales sont des **immunoglobulines** (abréviation "Ig") ou une partie d'immunoglobuline.

Les **plasmocytes normaux** produisent des immunoglobulines qui sont des **anticorps** nécessaires pour combattre une infection. Les plasmocytes anormaux présents chez les patients atteints de Macroglobulinémie de Waldenström ne produisent pas d'anticorps en réponse à une infection. Ils produisent en fait une immunoglobuline monoclonale qui ne fonctionne pas comme un anticorps. Cette immunoglobuline peut être composée de deux chaînes lourdes et deux chaînes légères (voir figure 3) ; de chaînes légères uniquement ou de fragments/combinaisons de cette molécule d'immunoglobuline qui sont uniques chez chaque patient atteint de Macroglobulinémie de Waldenström.

Les immunoglobulines peuvent être formées par un des cinq types possibles de chaînes lourdes (à savoir **IgG**, **IgA**, **IgM**, **IgD** et **IgE**) et par un des deux types de chaînes légères (kappa  $\kappa$  et lambda  $\lambda$ ). Par conséquent, il existe dix combinaisons possibles de chaînes lourdes et légères. IgG kappa, IgG lambda, IgA kappa, IgA lambda, IgM kappa etc... L'électrophorèse des protéines permet de détecter les dix combinaisons.

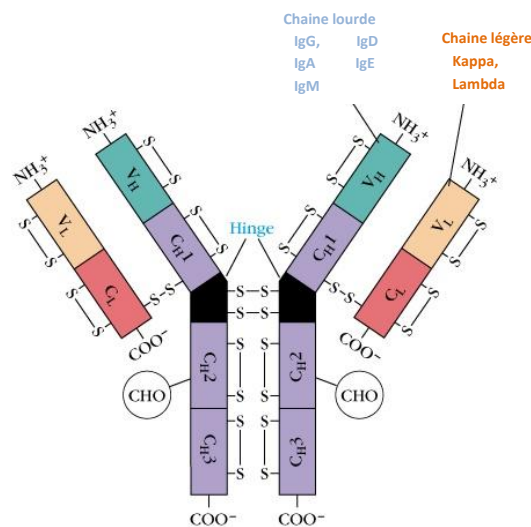


Figure 3. Structure d'une immunoglobuline.

Les plasmocytes produisent séparément des chaînes lourdes et des chaînes légères et ces chaînes sont, par la suite, assemblées pour former une immunoglobuline complète. Pour certaines raisons, les plasmocytes produisent une quantité plus importante de chaînes légères que de chaînes lourdes. Ainsi après l'assemblage de l'immunoglobuline complète, il reste quelques chaînes légères en excès. Ces chaînes légères sont appelées "**chaînes légères libres**" (les chaînes légères qui entrent dans la composition de l'immunoglobuline complète sont appelées "chaînes légères liées", car elles sont associées aux chaînes lourdes).

L'excès de chaînes légères libres passe dans la circulation sanguine et est par la suite filtré par les reins. Les reins sont ensuite capables de réabsorber ces chaînes légères libres et de les recycler en acides aminés (éléments de base permettant la construction de toutes les protéines du corps). Cependant, en présence d'une protéine monoclonale dans le sérum d'un individu, la quantité de chaînes légères libres devient trop importante pour que les reins puissent en réabsorber la totalité. Dans ce cas les chaînes légères libres monoclonales peuvent être présentes dans les urines; elles sont alors appelées **Protéines de Bence Jones** (du nom du médecin qui les a décrites pour la première fois).

### **Qu'est ce que l'électrophorèse des protéines ?**

L'électrophorèse des protéines est une analyse de laboratoire basée sur la séparation de protéines dans un champ électrique. Pour faire ce test, les laboratoires peuvent utiliser un milieu solide (tel que le gel d'agarose) ou des tubes de silice extrêmement fins remplis de liquide, appelés capillaires. Lorsqu'un échantillon contenant un mélange de protéines différentes est déposé sur un gel ou injecté dans un capillaire, les différentes protéines du mélange seront séparées en fonction de leur charge électrique.

Pour rechercher une protéine monoclonale, les laboratoires analysent le sérum et les urines par électrophorèse des protéines qui est le seul test permettant de confirmer la monoclonalité sans aucune ambiguïté.

### **Electrophorèse des protéines sériques**

Le sérum contient différentes variétés de protéines qui pourront être séparées par électrophorèse en cinq ou six fractions (selon la méthode utilisée par le laboratoire). Ces fractions (appelées également "zones" ou "régions" sont : Albumine, Alpha-1, Alpha-2, Bêta (qui pourra être séparée en Bêta-1 et Bêta-2) et Gamma. Les immunoglobulines polyclonales (normales) sont principalement localisées dans la zone Gamma.

Les immunoglobulines normales présentes dans le sérum diffèrent légèrement les unes des autres dans leur structure et leur charge électrique. Par conséquent, après l'électrophorèse, elles forment une large zone diffuse et symétrique sans aucune déformation visible.

Les protéines monoclonales sont produites par un seul clone de plasmocytes. Elles sont ainsi identiques entre elles et possèdent exactement la même charge électrique. C'est pour cette raison qu'elles migrent en formant un pic sur le tracé d'électrophorèse. Dans la plupart des cas, le pic se trouve au niveau de la zone Gamma, cependant il est possible de le trouver dans la zone Bêta-2, Bêta-1 voire même dans la zone Alpha-2 (ce dernier cas reste rare).

L'électrophorèse des protéines sériques peut être utilisée pour rechercher une protéine monoclonale mais aussi dans le suivi du patient pour quantifier la protéine monoclonale.

### **Electrophorèse des protéines urinaires**

Le rein agit comme un filtre en éliminant seulement quelques molécules et en laissant la majorité des protéines dans la circulation sanguine. Bien que certaines protéines de petites tailles traversent le

filtre rénal, elles sont, par la suite, réabsorbées par le rein et recyclées en acides aminés. Ainsi l'urine normale ne contient que quelques traces de protéines.

Différentes protéines peuvent apparaître dans les urines dans différentes pathologies. Si le rein lui-même est atteint, de nombreuses protéines sériques sont retrouvées dans les urines. Le résultat de l'électrophorèse des protéines urinaires ressemble alors à celui du sérum avec cinq ou six fractions visibles.

Lorsqu'une protéine monoclonale est présente dans le sérum, un excès de chaînes légères libres sera souvent présent dans l'urine, appelé protéine de Bence Jones. Elles seront visibles sous forme d'un pic étroit, le plus souvent dans la zone Gamma ou Bêta. L'électrophorèse des protéines urinaires est utilisée dans le but de rechercher une protéine de Bence Jones et de suivre sa concentration dans le temps. Cette technique peut également permettre l'évaluation des lésions rénales.

### **Immunofixation sérique et urinaire**

Lorsqu'un pic étroit est détecté sur le tracé de l'électrophorèse des protéines, la présence d'une protéine monoclonale est suspectée. Il est alors nécessaire de confirmer sa présence et d'en déterminer la nature en identifiant le type de chaînes lourdes et légères qui la composent. La connaissance du type de la protéine-M est importante à la fois pour poser le diagnostic et suivre le patient.

Afin de typer la protéine-M, une autre méthode d'électrophorèse sera utilisée et est appelée immunofixation (ou IF). Lors d'une IF, des **réactifs** spécifiques, appelés antisérums, sont utilisés.

Chacun de ces antisérums réagit avec un type particulier de chaîne lourde ou de chaîne légère. Les protéines monoclonales réagissent habituellement avec un type d'antisérum anti-chaîne lourde et un type d'anti-chaîne légère. Certains plasmocytes peuvent produire uniquement des chaînes légères libres ; dans ce cas, la protéine monoclonale réagira uniquement avec l'un ou l'autre antisérum des deux types de chaînes légères. Les techniques d'immunofixation sont plus sensibles que les méthodes d'électrophorèse des protéines. Elles peuvent détecter de faibles bandes monoclonales qui ne sont pas visibles à l'électrophorèse.

L'immunofixation ne permet cependant pas la quantification des protéines-M. Par conséquent, les deux techniques sont complémentaires et sont utilisées en même temps : l'électrophorèse pour détecter et quantifier une protéine monoclonale et l'immunofixation pour la typer.

### **Comment détecter et quantifier une protéine monoclonale ?**

Comme pour d'autres tests, les valeurs calculées en électrophorèse sont comparées aux valeurs de référence du laboratoire (valeurs déterminées par l'analyse d'échantillons de donneurs sains). Les fractions électrophorétiques peuvent ainsi être analysées visuellement. Une protéine monoclonale est suspectée lorsque le profil d'électrophorèse présente un pic additionnel ou lorsqu'une fraction présente une déformation ou une augmentation anormale. Ces anomalies sont généralement observées dans la bande des Gamma ou Bêta.

Pour confirmer la présence d'une protéine monoclonale et afin d'en identifier les chaînes lourdes ou légères, une immunofixation du sérum est effectuée. Lorsque la présence d'une protéine

monoclonale est confirmée, elle sera quantifiée en utilisant la courbe d'électrophorèse. La quantification se fait par la sélection du pic monoclonal en indiquant son début et sa fin sur la courbe. Ceci permettra de quantifier la surface de la courbe sous le pic et de l'exprimer en pourcentage de la courbe totale. En utilisant la valeur obtenue et le dosage des protéines totales (autre test biochimique) la quantité de protéine monoclonale en g/L peut être calculée.

Cette valeur pourra être utilisée par votre médecin, en combinaison avec d'autres résultats, pour établir un diagnostic.

Elle sera par la suite comparée aux valeurs obtenues lors des futures électrophorèses des protéines. Ceci permettra de suivre l'évolution de la maladie ainsi que la réponse au traitement.

Selon ces instructions, lorsqu'une protéine monoclonale est détectable et quantifiable par électrophorèse, le suivi doit être effectué à l'aide de l'électrophorèse sérique et/ou urinaire. Cependant, lorsqu'une protéine monoclonale ne peut être détectée par électrophorèse ou lorsqu'elle est présente à une très faible concentration, votre médecin utilisera un autre test pour surveiller votre pathologie, le test des chaînes légères libres.

### **Comment les résultats de l'électrophorèse des protéines peuvent-ils aider au choix approprié d'un traitement ?**

Comme précédemment mentionné, connaître précisément la mesure de la quantité de protéine monoclonale par EPS et/ou par EPU présente un avantage très important. Le suivi de la maladie en l'absence de pic en EPS ou EPU peut être beaucoup plus difficile.

La concentration de la protéine-M en EPS et EPU reflète l'importance de la maladie. Cependant il est très important de garder en mémoire que chaque patient est différent. Au moment du diagnostic, certains patients ont par exemple un pic sérique très élevé mais n'ont pas un grand nombre de cellules myélomateuses dans la moelle osseuse ou dans les os. Le cas inverse peut se produire également : quelques patients présentent un pic sérique faible mais beaucoup de cellules myélomateuses. Ainsi au moment du diagnostic il est important de corréliser la concentration du pic et la quantité de cellules chez un patient. Si le pic est faible, ceci peut être très important, puisque de très faibles variations peuvent être cruciales en termes de réponse à un traitement ou pour détecter une rémission ou une rechute potentielles.

### **Comment l'EPS et l'EPU peuvent aider ?**

1. Quantification et typage de la MW
2. Suivi régulier pour déterminer la rapidité et le niveau de réponse d'un traitement
3. Evaluation de la progression de la maladie ou des rechutes

### **Recommandations pratiques pour l'utilisation de l'électrophorèse des protéines sériques et urinaires**

Lorsqu'un nouveau traitement pour la Macroglobulinémie de Waldenström est appliqué, la concentration de la protéine-M dans le sérum et/ou dans l'urine doit être mesurée tous les mois (ou

tous les cycles de traitement, normalement dans un intervalle de 3 à 6 semaines) en utilisant l'EPS et/ou l'EPU.

Des analyses régulières sont nécessaires pour évaluer l'efficacité du traitement. En 2 à 3 mois, une réponse inefficace au traitement peut être mise en évidence. En effet les concentrations de la protéine-M par EPS/EPU diminueront soit de moins de 25%, ou augmenteront de plus de 25% (maladie progressive MP). A ce stade, un changement de traitement est nécessaire. C'est un moment important pour discuter les résultats et les options de traitement avec le clinicien.

Si le traitement est efficace dans la plupart des cas, on observera une amélioration (réduction) de la concentration de la protéine-M par EPS/EPU au cours des 2-3 premiers mois de traitement. Comme indiqué plus haut, le niveau de réponse au traitement peut être quantifié comme étant  $\geq 50\%$  (réponse partielle RP);  $\geq 90\%$  (très bonne réponse partielle TBRP); 100% (réponse complète RC).

La classification de la RC requiert également qu'aucune protéine-M ne soit détectable par immunofixation (IF) et que le test de la moelle osseuse ne montre aucune évidence de MW. Afin d'atteindre les niveaux les plus élevés de réponse comme la TBRP et la RC, il est généralement nécessaire de poursuivre le traitement 2-3 mois (un total de 4-6 mois). Plusieurs mois supplémentaires de traitement sont requis pour atteindre une réponse maximale.

Dans le cadre d'options de traitement supplémentaires, de nouvelles décisions sont telles qu'une transplantation autologue de cellules souches (TCSA) ou une consolidation du traitement en vue d'en améliorer la réponse. Par la suite une décision de commencer une thérapie de maintenance peut être prise ; le mieux est d'en discuter avec votre clinicien.

Lorsqu'un niveau stable de réponse est atteint, la fréquence du suivi peut être réduite à 2-3 mois et peut continuer ainsi si d'autres problèmes n'apparaissent pas. N'hésitez pas à discuter avec votre médecin de vos résultats d'EPS/EPU dès qu'ils sont disponibles.

### **Questions à poser à votre hématologue afin d'assurer une meilleure compréhension de vos résultats d'électrophorèse.**

\* Quelles sont les valeurs normales des immunoglobulines par EPS dans ce laboratoire et comment se situent mes résultats par rapport à la normale ?

\* Quelles sont les variations mensuelles des résultats par EPS et/ou EPU considérées dans les limites normales ? A partir de quand cette augmentation ou diminution est-elle considérée comme significative ?

\* Dans le cas où aucune protéine monoclonale n'est détectée par électrophorèse, est-ce que ceci signifie toujours une réponse complète ?

\* Est-il nécessaire d'analyser conjointement le sérum et l'urine par électrophorèse ?

\* Les patients ayant une MGUS doivent-ils être suivis par électrophorèse sérique et urinaire ? Si oui, quelle est la fréquence du suivi ?

## Glossaire

**Anticorps** : Il s'agit d'une protéine produite par un type de globules blancs (plasmocytes) dans le but de lutter contre les infections et des pathologies impliquant des antigènes comme les bactéries, virus, toxines et tumeurs. Chaque anticorps peut reconnaître un seul antigène spécifique. Le but de cette liaison est de détruire l'antigène.

Les anticorps peuvent avoir une activité pendant plusieurs jours, ceci dépend de la nature de l'antigène. Certains anticorps inactivent les antigènes directement. D'autres augmentent la vulnérabilité de l'antigène, rendant plus efficace sa destruction par d'autres globules blancs.

**Bence Jones (protéine de)** : Il s'agit d'une protéine monoclonale présente dans les urines. Sa quantité est exprimée en grammes par 24h. Dans les conditions normales, une très faible quantité de protéines (< 0,1 g 24/ h) peut être détectée dans les urines mais il s'agit d'albumine et non de protéine de Bence Jones. La présence de protéine de Bence Jones dans les urines est anormale.

**Electrophorèse** : Il s'agit d'un test de laboratoire qui permet la séparation des molécules présentes dans le sang (sérum) ou dans les urines, selon leur taille et leur charge électrique. En ce qui concerne les patients atteints de Macroglobulinémie de Waldenström, l'électrophorèse du sérum et des urines permet, d'une part, la quantification de la protéine monoclonale (protéine-M) et d'autre part, l'identification du pic, caractéristique de chaque patient. L'électrophorèse représente un outil pour le diagnostic mais également pour le suivi de la maladie.

**Chaînes légères libres** : La concentration d'un fragment de la protéine monoclonale de faible poids moléculaire peut être mesurée par un test sensible : le test Freelite.

**IgG, IgA** : Il s'agit des deux types de myélome les plus fréquents. Les lettres G et A font référence au type de protéine produites par les cellules du myélome. La protéine du myélome, qui est une immunoglobuline, consiste en deux chaînes lourdes (par exemple de type G), combinées à deux chaînes légères qui peuvent être des kappa ou des lambda. Les deux sous types de myélome les plus fréquents possèdent donc des chaînes lourdes identiques (à savoir IgG kappa et IgG lambda). Les termes "lourde" et "légère" se réfèrent à la taille ou poids moléculaire de la protéine en question, les chaînes lourdes étant plus grandes que les chaînes légères.

Puisque les chaînes légères sont plus petites, elles sont susceptibles de passer dans les urines, ce qui se traduit par la présence de protéine de Bence Jones dans les urines.

**IgD, IgE** : Deux types de myélome rencontrés plus rarement.

**IgM** : Généralement associée à la Macroglobulinémie de Waldenström, cela peut être un type de myélome mais il est beaucoup plus rare.

**Immunofixation** : Il s'agit d'un test immunologique utilisé pour le sérum ou les urines dans un but d'identifier les protéines. Ce test permet au médecin d'identifier le type de la protéine-M chez les patients atteints de myélome (souvent IgG, IgA, kappa ou lambda). C'est la meilleure technique immunologique de routine qui permet d'identifier d'une manière exacte le type de chaîne lourde et légère qui constituent la protéine-M.



**Immunoglobuline (Ig)** : Il s'agit d'une protéine produite par les plasmocytes et qui constitue une partie essentielle du système immunitaire. Les immunoglobulines se combinent à des substances étrangères qui ont pénétré le corps (antigènes comme des bactéries, des virus ou champignons) et aident l'organisme à les détruire. Les classes d'immunoglobulines sont IgA, IgG, IgM, IgD et IgE.

**Monoclonal** : Un clone est la multiplication d'une seule cellule. Le myélome se développe à partir d'un seul plasmocyte malin (clone unique). Le type de protéine produite est également monoclonal, c'est-à-dire une forme unique au lieu de plusieurs formes (polyclonales). L'aspect caractéristique d'une protéine monoclonale est son émergence sous forme de pic étroit à l'électrophorèse des protéines sériques.

**Protéine-M (pic monoclonal)** : Il s'agit d'anticorps ou de fragments d'anticorps qui sont retrouvés en quantité anormalement importante dans le sang ou les urines de patients atteints de myélome multiple. Le pic monoclonal fait référence à l'aspect étroit observé sur le profil en présence de protéine monoclonale. La protéine monoclonale et la protéine du myélome sont synonymes (se référer à la définition "monoclonal" plus haut).

**Plasmocytes** : Globules blancs particuliers produisant les anticorps. Le plasmocyte est la cellule maligne dans un myélome. Les plasmocytes normaux produisent des anticorps qui luttent contre l'infection. Au cours d'un myélome, les plasmocytes malins produisent un nombre important d'anticorps anormaux qui sont incapables de lutter contre l'infection.

Les anticorps anormaux constituent la protéine monoclonale ou protéine-M. Les plasmocytes produisent également d'autres molécules qui provoquent des lésions des tissus et des organes (anémies, atteintes rénales et atteintes du système nerveux).

**Réactif** : Substance chimique connue pour réagir de manière précise. Un réactif est utilisé pour détecter ou synthétiser une autre substance lors d'une réaction chimique.

**Rechute** : Réapparition des signes et symptômes d'une maladie après une longue période d'amélioration.

**Rémission ou Réponse** : Disparition complète ou partielle des signes et symptômes d'un cancer. Les termes rémission ou réponse sont interchangeables.

**Marqueur tumoral** : Substance présente dans le sang ou tout autre fluide biologique pouvant indiquer qu'une personne est atteinte d'un cancer. Dans le cas de la Macroglobulinémie de Waldenström la protéine-M est un marqueur tumoral. C'est un moyen indirect permettant d'estimer la quantité et l'activité des cellules de la Macroglobulinémie de Waldenström.