



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

**UNIVERSITE DJILLALI LIABES**

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE  
LA VIE**

**SIDI BEL ABBES**

## **Thèse De Doctorat en Sciences**

**Filière** : Sciences biologiques

**Spécialité** : Biochimie Appliquée

Présentée par :

**Bekhaled Imene**

Intitulé :

**Intérêt des dosages sériques et urinaires dans le diagnostic et le suivi du myélome multiple et évaluation de l'activité anti-myéломateuse du pissenlit (*Taraxacum Officinale*) chez le rat wistar**

Soutenu le: / / 2021

Devant le jury composé de :

|   |            |                     |                              |
|---|------------|---------------------|------------------------------|
| <b>M<sup>me</sup> Meziani Samira</b>      | Professeur | Présidente          | Université de sidi Bel Abbès |
| <b>M<sup>r</sup> Berroukche Abdelkrim</b> | Professeur | Examineur           | Université de Saida          |
| <b>M<sup>me</sup> Zemri Khalida</b>       | M.C.A      | Examinatrice        | Université de sidi Bel Abbès |
| <b>M<sup>me</sup> Mehida Hayet</b>        | M.C.A      | Directrice de thèse | Université de sidi Bel Abbès |

**Année universitaire : 2021-2022**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# Remerciements

*À ALLAH le tout puissant, le tres misericordieux et à son prophete (paix et salut sur lui); pour m'avoir donné le courage et la sante nécessaires pour mener à bien ce travail*

*J'adresse mes sincères remerciements et toute ma reconnaissance à ma directrice de thèse, Dr Mehida Hayet, pour son encadrement et ses bons conseils et pour ces qualités humaines qui m'ont beaucoup marqué. En plus de sa rigueur scientifique et de son intérêt pour le sujet, elle m'a apporté un soutien moral considérable.*

*Je remercie chaleureusement Dr Benalia Abdel Krim pour sa collaboration, sa disponibilité et ses intérêts portés pour le présent travail. Je le remercie pour tout ce qu'il a fait pour me permettre d'avancer*

*Je remercie Madame Meziani Samira, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider ce jury.*

*Mes remerciements vont aussi aux membres de jury Madame Zemri Khalida et Monsieur Berroukche Abdelkrim, pour l'honneur qu'ils nous font, pour avoir accepté d'évaluer ce travail*

*Mes remerciements vont aussi Djebbar Ahmed Abdel Hamid pour sa gentillesse, son aide et sa disponibilité tout le long de ce travail*



*Je remercie aussi Dr Maï Hicham pour sa collaboration  
Mes remerciements vont également à Madame Demmouche  
Abassia et madame Harrir Noria pour leurs accueils et leurs  
conseils.*

*Je remercie vivement Dr Oueldjerouat Hafida pour son  
accueil et sa collaboration pour la réalisation de cette thèse.*

*J'exprime ma gratitude à tous mes amis Tarfaoui Louiza,  
Kheira Rebbah, Ammour Fatima Zohra, Bensaid Ilias, Ismahane  
et Nawel.*

*J'adresse mes sincères remerciements à tous les ingénieurs de  
laboratoire Aicha, Mama, Fatima, Houaria, Siham, Ferdaws,  
Johaina*

*J'adresse mes chaleureux remerciements à Bendida Hadj  
pour son aide et pour son soutien. Mes remerciements ne pourront  
jamais égaler ton grand cœur qui m'a apporté du soutien au  
moment où j'avais besoin d'aide*

*Enfin j'adresse mille mercis à mes chers parents pour leurs  
soutiens inconditionnel dans toutes les étapes de ma vie, vous étiez  
vraiment une source d'énergie et d'encouragement, vous m'avez  
permis de surpasser les difficultés et les échecs.*

*Je tiens à remercier tous les membres de ma famille qui m'ont  
encouragé.*



# Dédicaces

## *A mes grands parents*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...  
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect.*

*J'aurais aimé vous voir aujourd'hui parmi l'assistance. Que Dieu repose vos âmes en paix.*

## *A mes chers parents*

*Il y a tant de choses à en sécher tout l'encre de ce monde  
mais aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect et mon profond amour.*

*Je ne vais jamais oublier vos sacrifices pour moi...  
Votre générosité sans limite, votre présence et vos conseils qui m'ont beaucoup servi dans mes études.*

*Vous récoltez dans ce travail les fruits de vos efforts, votre présence faisait naître en moi l'espoir nécessaire pour aller de l'avant.*

*Que Dieu vous garde et vous procure santé, longue vie et bonheur éternel.*



## *A mes frères et soeur*

*A ma sœur Zahira, ma belle soeur Asma et mes frères Mohamed, Seddik, Adel et Zoheir merci d'être présents pour me soutenir je vous souhaite tout le bonheur du monde.*

*A Hallouche Abdel Hak merci pour votre présence et pour votre soutien*

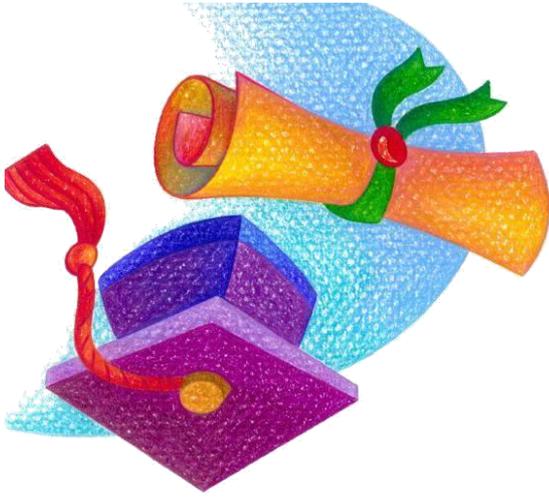
*A la personne qui m'a beaucoup aidé « Hadj Bendida », merci pour tout ce que tu as fait pour moi*

## *A ma famille*

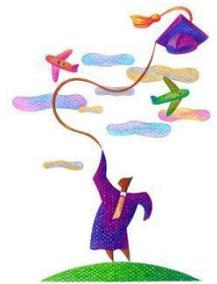
*A ma très cher famille tante Soria, Tonton Mohammed, Tante Karima et Tonton Azedine merci pour votre soutien, je vous adore*

**Je dédie ce travail**





# *Liste des figures*



- Figure N° 1 :** L'incidence du cancer dans le monde en 2018
- Figure N° 2 :** La mortalité par cancer dans le monde en 2018
- Figure N° 3 :** Mortalité ajustée à l'âge par lymphomes et myélomes multiples pour 100 000 habitants
- Figure N° 4 :** Plasmocyte (cellule myélomateuse)
- Figure N° 5 :** Hématies en rouleaux
- Figure N° 6 :** Plasmocytes circulants avec des rouleaux érythrocytaires
- Figure N° 7 :** Envahissement plasmocytaire médullaire
- Figure N° 8 :** Plasmocyte à cytoplasme flammé avec des vacuoles intra-cytoplasmique
- Figure N° 9 :** Plasmocyte à chromatine finement réticulée, présence de nucléoles
- Figure N° 10 :** Plasmocytes à noyaux binucléés ou multi-nucléés
- Figure N° 11 :** Biopsie ostéo-médullaire (MM)
- Figure N° 12 :** Schéma d'une biopsie ostéomédullaire
- Figure N° 13 :** Electrophorèse des protéines sériques
- Figure N° 14 :** Immunofixation
- Figure N° 15 :** Structure moléculaire d'une immunoglobuline
- Figure N° 16 :** Cryosyndrome se manifestant au niveau des extrémités des membres après exposition au froid
- Figure N° 17 :** Historique de traitement
- Figure N° 18 :** Représentation de la liaison récepteur-antigène et production d'anticorps
- Figure N° 19 :** Planche botanique de Taraxacum Officinale
- Figure N° 20 :** Capitule de Pissenlit
- Figure N° 21 :** Fruit d'un capitule de pissenlit
- Figure N° 22 :** Pissenlit (Taraxacum Officinale).
- Figure N° 23 :** Protocole expérimentale
- Figure N° 24 :** Fixation du rat sur la planche à dissection
- Figure N° 25 :** Prélèvement du sang par ponction cardiaque
- Figure N° 26 :** Ponction médullaire
- Figure N° 27 :** Sacrifice du rat
- Figure N° 28 :** Prélèvement des organes
- Figure N° 29 :** Catabolisme de la créatine

- Figure N° 30 :** Histogramme représentant la répartition des patients selon l'âge
- Figure N° 31 :** Répartition des patients selon le sexe
- Figure N° 32 :** Histogramme représentant la répartition des patients en fonction du sexe et des tranches d'âge
- Figure N° 33 :** Répartition selon les circonstances de découverte
- Figure N° 34 :** Histogramme représentant la répartition des patients selon de la protidémie
- Figure N° 35 :** Histogramme représentant la répartition des patients selon la migration du pic monoclonal en électrophorèses des protéines sérique
- Figure N° 36 :** Histogramme représentant la répartition des patients selon l'isotype du myélome multiple
- Figure N° 37 :** Répartition des patients selon le taux de calcémie
- Figure N° 38 :** Répartition des patients selon le dosage du L'albumine. Béta-2 microglobuline
- Figure N° 39 :** Répartition des patients selon le dosage de la Béta-2 microglobuline
- Figure N° 40 :** Histogramme représentant la répartition des patients en fonction de la LDH
- Figure N° 41 :** Répartition des patients selon le taux de créatinine
- Figure N° 42 :** Répartition des patients selon le taux de CRP
- Figure N° 43 :** Histogramme représentant la répartition des patients selon le taux de la VS (mm a la 1ère heure)
- Figure N° 44 :** Histogramme représentant les taux d'Hb, GB, PLQ chez les patients atteints de MM
- Figure N° 45 :** Répartition des patients selon le pourcentage des plasmocytes médullaire
- Figure N° 46 :** Répartition des patients selon le sexe
- Figure N° 47 :** Répartition selon l'âge
- Figure N° 48 :** Corrélation entre sexe et statut à 100 jours
- Figure N° 49 :** Corrélation entre l'âge et le nombre de CD34+
- Figure N° 50 :** Corrélation entre durée de vie et cryothérapie
- Figure N° 51 :** Durée de vie entre l'âge et le sexe
- Figure N° 52 :** Distribution selon la connaissance de la plante
- Figure N° 53 :** Répartition des fréquences entre médecine moderne et traditionnelle
- Figure N° 54 :** Répartition selon le domaine d'utilisation
- Figure N° 55 :** Distribution selon la posologie utilisée
- Figure N° 56 :** Répartition selon les effets secondaires

- Figure N° 57** : Répartition selon l'efficacité de la plante
- Figure N° 58** : Courbe d'étalonnage d'acide gallique
- Figure N° 59** : Courbe d'étalonnage de la catéchine
- Figure N° 60** : Courbe d'étalonnage de la catéchine
- Figure N° 61** : Dosage DPPH extrait racines
- Figure N° 62** : Dosage DPPH extrait de feuilles
- Figure N° 63** : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique
- Figure N° 64** : Courbe d'étalonnage du zinc
- Figure N° 65** : Courbe d'étalonnage du calcium
- Figure N° 66** : Courbe d'étalonnage du manganèse
- Figure N° 67** : Courbe d'étalonnage du magnésium
- Figure N° 68** : Courbe d'étalonnage du fer
- Figure N° 69** : Courbe d'étalonnage du cuivre
- Figure N° 70** : Courbe d'étalonnage du molybdène
- Figure N° 71** : Courbe d'étalonnage des ions de sodium
- Figure N° 72** : Courbe d'étalonnage des ions de potassium
- Figure N° 73** : Evaluation du taux de la créatinine (mg/dl) et urée (g/dl)
- Figure N° 74** : Evaluation du taux ASAT et ALAT (UI)
- Figure N° 75** : Evaluation du taux de glycémie g/l
- Figure N° 76** : Evaluation du taux de cholestérol total et des triglycérides chez les rats traités par extrait de racines de pissenlit
- Figure N° 77** : Signes relatifs à l'intoxication par le benzène
- Figure N° 78** : Evaluation du poids corporelle en fonction du temps
- Figure N° 79** : Evaluation de la protéine C-réactive
- Figure N° 80** : Evaluation du taux des protéines totales
- Figure N° 81** : Evaluation de l'albumine
- Figure N° 82** : Electrophorèse des protéines sériques
- Figure N° 83** : Evaluation du taux de glycémie g/l
- Figure N° 84** : Evaluation du taux de globules blancs
- Figure N° 85** : Evaluation du taux de globules rouges
- Figure N° 86** : Evaluation du taux d'hémoglobine

**Figure N° 87 :** Evaluation du taux de plaquettes

**Figure N° 88 :** Frottis médullaire témoin négatif

**Figure N° 89 :** Frottis sanguin témoin négatif

**Figure N° 90 :** Envahissement plasmocytaire médullaire

**Figure N° 91 :** Envahissement plasmocytaire médullaire

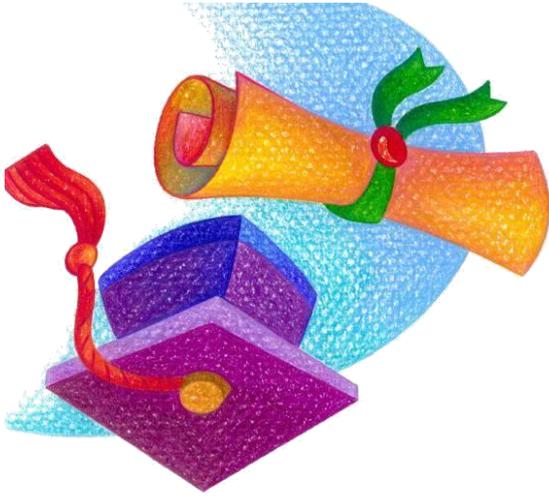
**Figure N° 92 :** Hématies en rouleaux

**Figure N° 93 :** Hématies en rouleaux

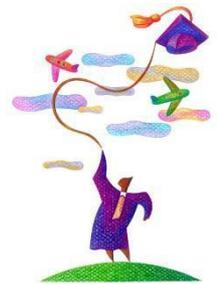
**Figure N° 94 :** plasmocyte circulant avec des rouleaux érythrocytaire sur frottis sanguin

**Figure N° 95 :** Plasmocyte à cytoplasme flammé avec vacuole intra-cytoplasmique sur frottis médullaire

**Figure N° 96 :** plasmocyte binucléé sur un frottis médullaire



# *Liste des tableaux*



- Tableau N° 1 :** Valeur pronostique des principales anomalies chromosomiques
- Tableau N° 2 :** Recommandations du GFCH pour la prise en charge cytogénétique du myélome multiple
- Tableau N° 3 :** Immunophénotypage plasmocytaire dans le myélome multiple : marqueurs d'intérêt, profils d'expression et valeur pronostique
- Tableau N° 4 :** Critères d'atteintes des systèmes CRAB
- Tableau N° 5 :** Classification ISS (International Staging System)
- Tableau N° 6 :** Stade selon Durie et Salmon
- Tableau N° 7 :** Récapitulatif des signes cliniques et biologiques observés au cours de la maladie de Waldenström
- Tableau N° 8 :** Classification de Durie et Salmon
- Tableau N° 9 :** International Staging System (ISS)
- Tableau N° 10 :** Critères de réponse selon l'EBMT
- Tableau N° 11 :** Critères de réponse au traitement selon IMWG
- Tableau N° 12 :** Classification du pissenlit selon la classification APG IV
- Tableau N° 13 :** Quantité de vitamines et de minéraux présent dans la feuille de pissenlit et apport quotidien de références
- Tableau N° 14 :** Répartition des groupes pour l'étude de toxicité
- Tableau N° 15 :** Répartition des lots d'animaux expérimentaux
- Tableau N° 16 :** Procédure de coloration
- Tableau N° 17 :** Protocole du dosage de la créatinine
- Tableau N° 18 :** Protocole du dosage d'urée
- Tableau N° 19 :** Protocole du dosage de la glycémie
- Tableau N° 20 :** Protocole du dosage de protéine totale
- Tableau N° 21 :** Protocole du dosage du cholestérol total
- Tableau N° 22 :** Protocole du dosage des triglycérides
- Tableau N° 23 :** Répartition des patients selon le type de chaîne légère
- Tableau N° 24 :** Répartition des patients en fonction de la protéinurie.
- Tableau N° 25 :** Répartition selon le statut post greffe 1 et statut à 100 jours
- Tableau N° 26 :** Répartition de la population questionnée
- Tableau N° 27 :** Répartition selon le mode d'utilisation
- Tableau N° 28 :** Rendement d'extraction éthénolique

**Tableau N° 29 :** Screening phytochimique des racines

**Tableau N° 30 :** Screening phytochimique des feuilles

**Tableau N° 31 :** Activité antioxydante des extraits éthanolique des feuilles et des racines de pissenlit

**Tableau N° 32 :** Evaluation du taux de zinc dans l'extrait de racines de pissenlit

**Tableau N° 33 :** Evaluation du taux de calcium dans l'extrait de racines de pissenlit

**Tableau N° 34 :** Evaluation du taux de manganèse dans l'extrait de racines de pissenlit

**Tableau N° 35 :** Evaluation du taux de magnésium dans l'extrait de racines de pissenlit

**Tableau N° 36 :** Evaluation du taux de fer dans l'extrait de racines de pissenlit

**Tableau N° 37 :** Evaluation du taux de cuivre dans l'extrait de racines de pissenlit

**Tableau N° 38 :** Evaluation du taux de molybdène dans l'extrait de racines de pissenlit

**Tableau N° 39 :** Evaluation du taux des ions de sodium dans l'extrait de racines de pissenlit

**Tableau N° 40 :** Evaluation du taux des ions des ions de potassium dans l'extrait de racines de pissenlit

**Tableau N° 41 :** comportement et signes de toxicité

**Tableau N° 42 :** Evaluation des paramètres hématologiques

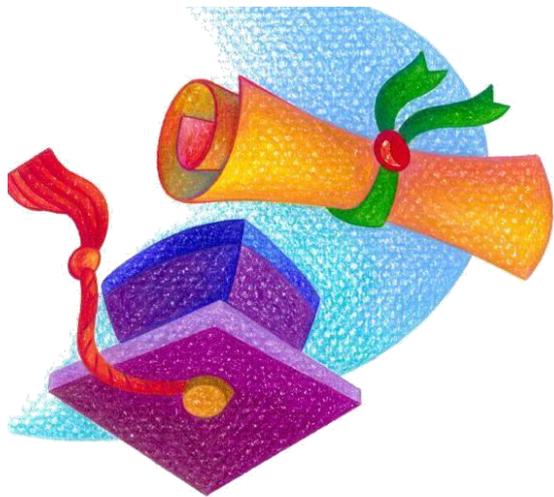
**Tableau N° 43 :** Evaluation des signes relatifs à l'induction du myélome multiple

**Tableau N° 44 :** Pourcentage de Mortalité chez les rats rendus myélomateux

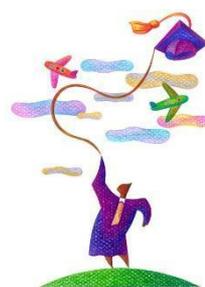
**Tableau N°45 :** Evaluation du taux de la créatinine (mg/dl) et urée (g/dl)

**Tableau N°46 :** Evaluation du taux des transaminases (UI)

**Tableau N°47 :** Evaluation du taux de cholestérol total et des triglycérides mmol/l



# *Liste des abréviations*



**4-AP** : 4 amino-phénazone  
**A.D.N**=Acide Desoxyribonucleique  
**ADP** : Adenosine Diphosphate  
**AL** : amylose chaine légère d'immunoglobuline  
**ALP** : Phosphatase Alcaline.  
**ALT** : Alanine transaminase.  
**AMM**= Autorisation de Mise sur le Marche  
**ARN**=Acide Ribonucleique  
**AST** : Aspartate transaminase  
**ATP** : Adénosine Triphosphate  
**b2m=b2** -microglobuline  
**BOM**= Biopsie Osteomedullaire  
**C** : Traitement combiné  
**CD**= Cluster of Differentiation  
**CHE**: Cholestérol estérase.  
**CHOD**: Cholestérol Oxydase  
**CL** : chaine légère  
**CLL** =Chaine Legere Libre  
**CRAB** : Hypercalcémie, atteinte rénale, anémie et atteinte osseuse  
**Créat** = Creatininemie  
**CRP**= Proteine C-Reactive  
**CSH** =Cellule Souche Hematopoietique  
**DCIV** : Déficit immunitaire commun variable  
**Del** : délétion  
**DL50** : Dose Létale 50  
**DPPH** : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl  
**EMBT** : European Society for Blood and Marrow Transplantation  
**EPS**= Electrophorese des Proteines Seriques  
**EPU** : Electrophorèse des protéines urinaires  
**FISH** =Hybridation In Situ en Fluorescence  
**GFCH** : groupe français de cytogénétique hématologique  
**GvM** : Greffons contre la maladie  
**Hb** : Hemoglobine

**HLA** : Human leukocyte antigen  
**IC50** : Concentration inhibitrice médiane  
**IEP** : immunoélectrophorèse  
**IF** : immunofixation  
**IL**= Interleukine  
**IMWG** =International Myeloma Working Group  
**IP** : Intrapéritonéale.  
**IRM** =Imagerie par Resonance Magnetique  
**ISS** =International Staging System  
**LCP** : Leucémie à plasmocytes  
**LCP-P** : Leucémie à plasmocytes primitive  
**LCP-S** : Leucémie à plasmocytes secondaire  
**LDH**= Lactate deshydrogenase  
**LEAD** : Lupus érythémateux aigu disséminé  
**M-CSF**=Macrophage Colony Stimulating Factor  
**ME** : microscopie électronique  
**MGG**= May-Grunwald Giemsa  
**MGUS**= Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance  
**MIP** : macrophage protein inflammatoire  
**MIP-1**=Macrophage Inflammatory Protein-1  
**MM** =Myelome Multiple  
**NCM** : néphropathie à cylindres myélomateux  
**NFS** : Numeration Formule Sanguine  
**NK** : Natural Killer  
**OAF** : Osteoclast Activating Factor  
**OMS** : Organisation mondiale de la santé  
**ORL** : Oto-Rhino-Laryngologie  
**PBJ** : Proteinurie de Bence Jones  
**PHP** : Pseudohypoparathyroidies  
**Ppm** : Partie par million  
**PROG** : Progression  
**PTHrP** : Parathyroid hormone-related protein  
**R** : Traitement racinaire

**RANKL**= Receptor Activator for Nuclear factor Kappa b Ligand

**RC** : réponse complète

**RP** : Réponse partielle

**SMM** : Stade précoce du myélome multiple

**SWOG** : South West Oncology Group

**TBRP** : Très bonne réponse partielle

**TC** : Myélomateux plus traitement combiné

**TN** : Témoin négatif

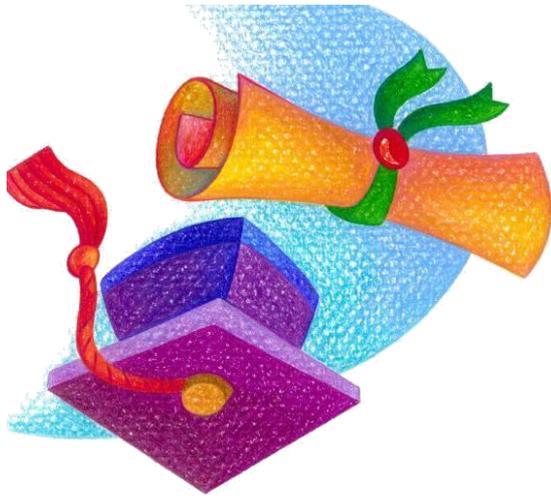
**TNF** : Tumor Necrosis Factor

**TP** : Témoin positif

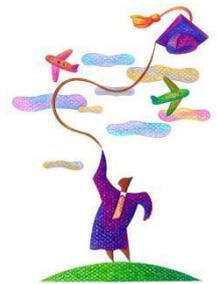
**TR** : Myélomateux plus traitement racinaire

**VGPR** : Très bonne réponse partielle

**VS** : Vitesse de Sedimentation



# ***Lexique médicale***



**Allèle** : Variante donnée à un gène

**Allogreffe** : greffe pratiqué entre deux individus d'une même espèce génétiquement différent.

**Anémie** : diminution du taux de d'hémoglobine dans le sang.

**Anémie normocytaire normochrome** : Les anémies normocytaires normochromes non régénératives sont causées par une maladie de la moelle osseuse primitive (états pré-leucémiques, aplasie médullaire, fibrose de la moelle) ou secondaire (envahissement médullaire par un processus cancéreux).

**Asthénie** : diminution du pouvoir fonctionnel de l'organisme.

**Autogreffe** : greffe dans laquelle le greffon est prélevé sur le sujet elle-même.

**Cellules souches** : les cellules sont les plus petites entités vivantes de l'organisme qui constituent les tissus et organes du corps humain. Les cellules souches situées dans la moelle osseuse se multiplient, puis se spécialisent pour former l'ensemble des cellules et éléments du sang : globules blancs, globules rouges et plaquettes.

**Exon** : Segment d'un gène représenté dans l'ARNm mature et inclus dans la séquence codant pour la protéine.

**Gene** : Unité de base de la génétique. Défini comme une région contigüe d'ADN qui inclut un nombre défini d'exons et d'introns.

**Génotype** : L'ensemble des gènes d'un individu. Terme également utilisé pour décrire une paire d'allèles à un locus (endroit sur un chromosome) spécifique.

**Hémogramme** : numération des cellules sanguines.

**Interféron** : substance de l'organisme dotée propriétés antivirale, anticancéreuse.

**Intron** : Séquence d'ADN non codante qui sépare les exons d'un gène

**Mutation** : Variation dans la séquence d'ADN à un locus donné présente avec une fréquence allélique de moins de 1 % dans une population

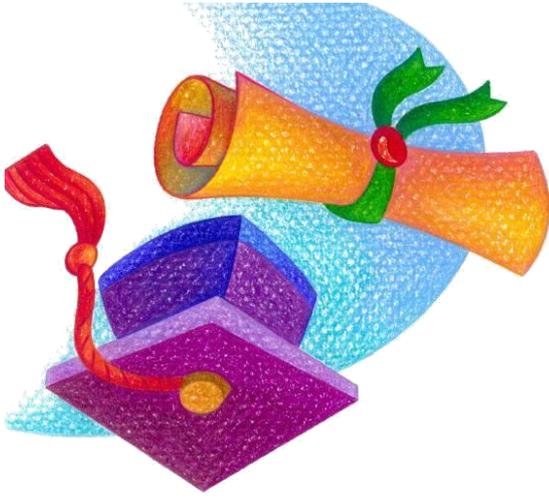
**Oncogène** : est un gène dont l'expression favorise la survenue d'un cancer. Il résulte de la modification ou de la surexpression d'un gène normal

**Phénotype** : L'expression du génotype d'un individu (traits observables chez l'individu) résultant de l'expression des allèles. Il peut varier en fonction de facteurs extrinsèques, comme l'alimentation, l'environnement, l'exposition à un médicament, etc. Exemple : couleur des yeux, taille, réponse à un médicament.

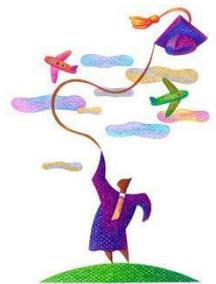
**Polymorphisme génétique** : L'existence de plusieurs allèles d'un même gène. Le terme polymorphisme est employé lorsque la fréquence d'un allèle est supérieure à 1 % d'une population

**Polymorphisme** : Variation dans la séquence d'ADN présente avec une fréquence allélique d'au moins 1 % dans une population

**Thrombopénie** : elle correspond à une chute du taux de plaquettes sanguines



# *Résumé*



Le myélome multiple ou la maladie de Kahler est une hémopathie caractérisée par la prolifération médullaire d'un clone plasmocytaire anormale sécrétant une immunoglobuline monoclonale. A l'heure actuelle le myélome multiple reste une maladie incurable.

Ces dernières années la médecine alternative occupe une place importante afin de soulager et guérir plusieurs maladies.

Ce travail consiste à évaluer l'activité anti-myéломateuse du pissenlit (*Taraxacum officinale*) chez les rats wistar et réaliser une étude sur le profil épidémiologique, clinique, biologique et biochimique portant sur l'intérêt des dosages sériques et urinaires dans le diagnostic et le suivi thérapeutique du myélome multiple et aussi voir la place de l'autogreffe comme une stratégie thérapeutique.

A cet égard, nous avons réalisé une étude expérimentale sur des rats wistar et une étude épidémiologique rétrospective sur 419 patients myéломateux.

L'étude épidémiologique a révélé que l'hypoalbuminémie, l'hyperprotidémie et l'hypercalcémie sont fréquents chez la majorité des patients. Aussi nous avons noté une migration prédominante des immunoglobulines dans la zone gamma. D'autre part, sur le plan hématologique nous avons enregistré une anémie, une leucopénie, la présence des hématies en rouleaux et des plasmocytes malins.

La greffe des cellules souches hématopoïétiques est considérée comme le protocole standard chez les patients moins de 65 ans. L'analyse des données montre des résultats significatifs entre l'âge du patient et le nombre de CD34+. D'autre part, les résultats obtenus révèlent une corrélation hautement significative entre la cryothérapie et la survie globale. De plus cette étude montre un taux de survie globale de 5 ans.

Les résultats obtenus par l'étude pharmaco-botanique auprès de 1000 personnes montrent que 70% des personnes questionnés ne connaissent pas la plante. Les feuilles et les racines constituent les parties les plus utilisées. Cette étude révèle que la majorité des utilisateurs consomment la plante pour traiter les affections hématologiques en première position suivi par les affections gastriques.

L'étude de la toxicité d'extrait de racines a montré une perturbation très significative ( $p < 0.01$ ) des transaminases. Aucune différence significative n'a été observée pour les paramètres hématologiques et lipidiques. D'autre part, cette étude a démontré que l'extrait de racines de pissenlit est faiblement toxique par voie intrapéritonéale avec une DL50 comprise entre 500-5000 mg/kg

L'induction du myélome multiple chez le rat wistar a été réalisée avec succès. En effet, des perturbations hautement significatives des différents paramètres biochimiques, lipidiques et hématologiques ont été observées. Cependant, nous avons enregistré une hyperprotidémie, hypoalbuminémie, augmentation des transaminases, hypercréatinémie, hypercholestérolémie, leucopénie et anémie. D'autre part, l'électrophorèse des protéines sériques a montré un pic monoclonal dans les zones gamma et béta. L'analyse du frottis sanguin et myélogramme a montré la présence des hématies en rouleaux et des plasmocytes malins. En outre, chez les rats traités par l'extrait de racines et l'extrait combiné (feuilles et racines) nous avons noté une amélioration très significative. Le taux de globules blancs, d'hémoglobine, d'albumine, des protides totaux s'est normalisé. L'électrophorèse des protéines sérique a montré que 75% des rats traités avec l'extrait de racines avaient un profil normal contre 50% des rats traités avec l'extrait combiné.

**Mots clés :** myélome multiple, plasmocytes malins, dosages sériques et urinaires, suivi thérapeutique, *Taraxacum Officinale*.

Multiple myeloma or Kahler's disease is a haemopathy characterised by the proliferation of an abnormal plasma cell clone secreting monoclonal immunoglobulin in the marrow. At present, multiple myeloma remains an incurable disease.

In recent years, alternative medicine has played an important role in alleviating and curing many diseases.

This work consists of evaluating the anti-myeloma activity of dandelion (*Taraxacum officinale*) and realized out a study on the epidemiological, clinical and biological profile concerning the interest of serum and urinary assays in the diagnosis and follow-up of multiple myeloma and also see the place of autotransplantation as therapeutic strategy.

In this regard, we conducted an experimental study on wistar rats and a retrospective epidemiological study on 419 myeloma patients.

The epidemiological study revealed that hypoalbuminemia, hyperproteinemia and hypercalcaemia are common in the majority of patients. In our series we noted a predominant migration of immunoglobulins in the gamma zone. On the other hand, on the haematological level we recorded the presence of anaemia, leukopenia, the presence of rolled red blood cells and malignant plasma cells.

Hematopoietic stem cell transplantation is considered the standard protocol in patients under 65 years old. Data analysis shows a significant correlation between the patients age and the CD34+ count and a highly significant correlation between cryotherapy and overall survival rate that was about 5 years.

The results obtained by the pharmacobotanical study with 1000 people show that 70% of the population questioned do not know the plant. Leaves and roots are the most used parts. This study shows that the majority of users use the plant to treat hematological conditions in the first position followed by gastric conditions.

The obtained results reveal a very significant ( $p < 0.01$ ) disruption of transaminases but not in renal, lipid and hematological parameters. The acute toxicity study demonstrated that dandelion roots extract has low intraperitoneal toxicity with a LD50 ranged between 500 and 5000 mg/kg.

The induction of multiple myeloma in wistar rats was successfully achieved. Indeed, highly significant disturbances of various biochemical, lipid and haematological have been noticed. However, we have recorded hyperproteinemia, hypoalbuminemia, increased transaminases, hypercreatinemia, hypercholesterolemia, leukopenia and anemia. On the other hand, serum protein electrophoresis showed a monoclonal peak in the gamma and beta regions. Blood smear and myelogram analysis showed the presence of rolling red blood cells and malignant plasma cells. In addition, in rats treated with the root extract and the combined extract (leaves and roots) we recorded a very significant improvement. The level of white blood cells, hemoglobin, albumin, total proteins has normalized. Serum protein electrophoresis showed that 75% of rats treated with the root extract had a normal profile compared to 50% of rats treated with the combined extract.

**Keywords:** multiple myeloma, serum and urinary assays, therapeutic follow-up, *Taraxacum Officinale*, malignant plasma cells.

الورم النقوي المتعدد أو مرض كالر هو مرض دموي يصيب نخاع العظم ويتميز بتكاثر غير طبيعي لخلايا البلازما الشاذة والتي تفرز الغلوبولين المناعي أحادي النسيلة. اليوم، لا يزال الورم النقوي المتعدد مرضاً عضالاً. في السنوات الأخيرة، احتل الطب البديل مكانة مهمة من أجل تخفيف وعلاج العديد من الأمراض. يتمثل هذا العمل في تقييم نشاط نبات الهندباء المضاد للورم النخاعي لدى فئران ويستار وإجراء دراسة على الملف الوبائي والسرييري والبيولوجي مع التركيز على قيمة التحاليل المصلية والبولية في تشخيص ورصد الورم النقوي المتعدد والنظر أيضاً إلى مكانة الزرع الذاتي كاستراتيجية علاجية.

في هذا السياق، أجرينا دراسة تجريبية على فئران ويستار ودراسة وبائية بأثر رجعي على 419 مريضاً بالورم النخاعي. كشفت الدراسة الوبائية أن نقص ألبومين الدم وفرط بروتين الدم وفرط كالسيوم الدم شائع لدى غالبية المرضى. أيضاً، لاحظنا هجرة سائدة للجلوبولينات المناعية في منطقة جاما. من جانب آخر، وفيما يتعلق بأمراض الدم، سجلنا وجود فقر الدم ونقص الكريات البيضاء ووجود خلايا الدم الحمراء في شكل لفائف وخلايا بلازما خبيثة.

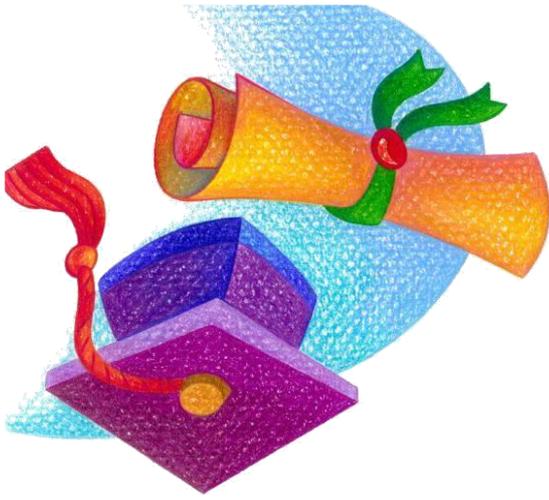
يعتبر زرع الخلايا الجذعية المكونة للدم البروتوكول الموحد للمرضى الذين تقل أعمارهم عن 65 سنة. ويظهر تحليل البيانات نتائج هامة بين عمر المريض وعدد CD34+. كما تظهر النتائج وجود ارتباط كبير بين العلاج بالتبريد والبقاء على قيد الحياة بشكل عام. علاوة على ذلك، تبين هذه الدراسة أن معدل البقاء الإجمالي هو 5 سنوات.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من خلال الدراسة الصيدلانية على 1000 شخص أن 70% من السكان الذين تم سؤالهم لا يعرفون نبات الهندباء. كما بينت أن أجزاء النبات الأكثر استخداماً هي الأوراق والجذور. كما أظهرت أن غالبية المستخدمين يستخدمون النبات لعلاج أمراض الدم أولاً تليها أمراض المعدة.

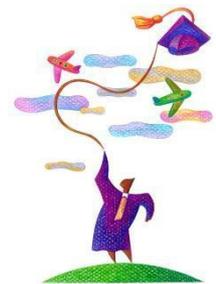
كما أظهرت الدراسة السمية لمستخلص جذور الهندباء حدوث خلل ( $p > 0.01$ ) في نسبة الترنساميناز كما لم يلاحظ أي فرق في معاملات الدم والدهون. من ناحية أخرى، أظهرت هذه الدراسة أن مستخلص جذر الهندباء له سمية ضعيفة داخل الغشاء البريتوني مع جرعة قاتلة 50% (DL50) تتراوح بين 500-5000 مجم / كغ

من جانب آخر، تم إجراء تحريض الورم النقوي المتعدد في فئران ويستار بنجاح. وقد لوحظت اضطرابات كبيرة في مختلف التحاليل البيوكيميائية والدهنية والدموية. كما تم تسجيل فرط في بروتينات الدم، ألبومين الدم، زيادة في نسبة الترنساميناز، فرط كريات الدم، فرط كوليسترول الدم، نقص الكريات البيضاء وفقر الدم. من ناحية أخرى، أظهرت الهجرة الكهربائية لبروتينات المصل ذروة أحادية النسيلة في منطقتي جاما وبيتا. كمت بين تحليل مسحة الدم وتصوير النخاع وجود خلايا حمراء ملفوفة وخلايا بلازما خبيثة. بالإضافة إلى ذلك، لوحظ تحسن كبير عند الفئران المعالجة بمستخلص الجذر والمستخلص المركب (الأوراق والجذور). حيث تم تسجيل تحسن في مستوى خلايا الدم البيضاء والهيموجلوبين والألبومين والبروتينات الكلية. كما أظهرت الهجرة الكهربائية لبروتين الدم أن 75% من الفئران التي عولجت بمستخلص الجذر كان لها وضع طبيعي مقارنة بـ 50% من الفئران التي عولجت بالمستخلص المركب.

**الكلمات المفتاحية:** الورم النقوي المتعدد، فحوصات المصل والبول، المراقبة العلاجية، الهندباء، خلايا البلازما الخبيثة.



# ***Sommaire***



**Remerciement****Dédicace****Liste des figures****Liste des tableaux****Liste des abréviations****Lexique médicale****Résumé****Abstract****المخلص****Introduction générale.....1****Chapitre I : Myélome multiple**

|     |  |    |
|-----|--|----|
| I.  | Cancer.....  | 5  |
| II. | Myélome multiple.....  | 6  |
|     | II.1 Définition.....   | 6  |
|     | II.2 Epidémiologie .....   | 2  |
|     | II.3 Etiologie .....   | 7  |
|     | II.4 physiopathologie .....  | 8  |
|     | II.5 Conséquences clinico-biologiques et physiologie du myélome multiple ..... | 11 |
|     | II.5.1. Atteinte osseuse .....   | 11 |
|     | II.5.2 Atteinte rénale.....  | 11 |
|     | II.5.3 Infection .....   | 12 |
|     | II.5.4 Signe neurologique .....  | 13 |
|     | II.5.6 Syndrome d'hyperviscosité .....   | 13 |
|     | II.5.7 Anémie.....   | 13 |
|     | II.5.8 Modifications Biochimiques.....   | 14 |
|     | II.6 Biologie du Myélome. ....   | 14 |
|     | a. Numération formule sanguine (FNS).....                                      | 14 |
|     | b. Frottis sanguin .....   | 14 |
|     | c. Médulogramme.....   | 15 |
|     | d. Biopsie ostéo-médullaire.....   | 16 |

|  |    |
|--|----|
| e. Exploration des Ig monoclonale.....   | 17 |
| f. Autres tests biochimiques.....  | 22 |
| g. Examen cytogénétique.....   | 23 |
| II.7 Diagnostic.....   | 29 |
| II.7.1 Critères de diagnostic.....   | 29 |
| II.7.2 Diagnostic différentielle.....  | 33 |
| II.8 Formes cliniques.....   | 34 |
| a. Myélome asymptomatique.....   | 34 |
| b. Myélome symptomatique.....  | 34 |
| c. Plasmocytome solitaire.....   | 34 |
| d. Leucémie à plasmocytes.....   | 35 |
| e. Myélome ostéocondensant.....  | 35 |
| f. Myélomes à isotype d'immunoglobuline rare.....                                  | 36 |
| II.9 Critères pronostiques.....  | 36 |
| a. Facteurs pronostiques individuels.....  | 37 |
| b. Classification pronostic.....   | 38 |
| II.10 Traitement.....  | 40 |
| II.10.1 Historique du traitement de myélome multiple.....                          | 41 |
| II.10.2 Principe de traitement.....  | 41 |
| II.10.3 Objectif de traitement.....  | 41 |
| II.10.4 Choix du traitement.....   | 41 |
| II.10.5 Critère de réponse.....  | 42 |
| II.10.6 Substance utilisées.....   | 44 |
| II.10.7 Stratégies thérapeutiques dans la prise en charge du myélome Multiple..... | 46 |
| II.10.8 La greffe de cellules souches hématopoïétiques.....                        | 49 |

## Chapitre II : Taraxacum Officinale (pissenlit)

|   |    |
|---|----|
| I. Classification de la plante .....            | 52 |
| II. Répartition géographique.....               | 52 |
| III. Description botanique.....                 | 52 |
| IV. Composition chimique.....                   | 54 |
| V. Propriétés nutritionnelles de pissenlit..... | 55 |
| VI. Effet thérapeutique de pissenlit.....       | 56 |

|      |               |    |
|------|---------------|----|
| VII. | Toxicité..... | 57 |
|------|---------------|----|

### Chapitre III : Matériels et méthodes

|      |   |    |
|------|---|----|
| I.   | Objectif.....   | 58 |
| II.  | Etude épidémiologique et profil biochimique des patients atteints de myélome multiple.....                                | 58 |
| III. | Etude épidémiologique sur la place de l'autogreffe dans la prise en charge des patients atteints de myélome multiple..... | 59 |
| IV.  | Enquête ethnobotanique sur l'utilisation de pissenlit dans la région Ouest d'Algérie .....                                | 60 |
| V.   | Etude phytochimique.....  | 61 |
|      | a. Préparation des extrais.....   | 61 |
|      | b. Détermination du rendement.....  | 61 |
|      | c. Screening phytochimique.....   | 61 |
|      | d. Dosage des phénols totaux.....   | 62 |
|      | e. Dosage des flavonoïdes.....  | 63 |
|      | f. Dosages des tanins condensées.....   | 63 |
|      | g. Evaluation de l'activité antioxydante (DPPH).....  | 64 |
|      | h. Spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA).....  | 64 |
|      | i. Spectrophotométrie d'émission de flamme.....   | 65 |
| VI.  | Evaluation de la toxicité aiguë des racines de pissenlit.....   | 65 |
|      | a. Matériel végétal.....  | 65 |
|      | b. Animaux.....   | 66 |
|      | c. Détermination de la DL50.....  | 66 |
|      | d. Dosages biochimiques.....  | 67 |
|      | e. Dosage hématologique.....  | 67 |
|      | f. Analyse statistique.....   | 67 |
| VII. | Evaluation de l'activité anti-myélomateuse du pissenlit.....  | 67 |
|      | a. Induction du myélome multiple.....   | 67 |
|      | b. Suivi des animaux avant sacrifice.....   | 68 |
|      | c. Anesthésie et sacrifice.....   | 68 |
|      | d. Préparation des échantillons sanguin pour l'analyse.....   | 71 |
|      | e. Bilan biologique.....  | 71 |

### Chapitre IV : Résultats et discussions

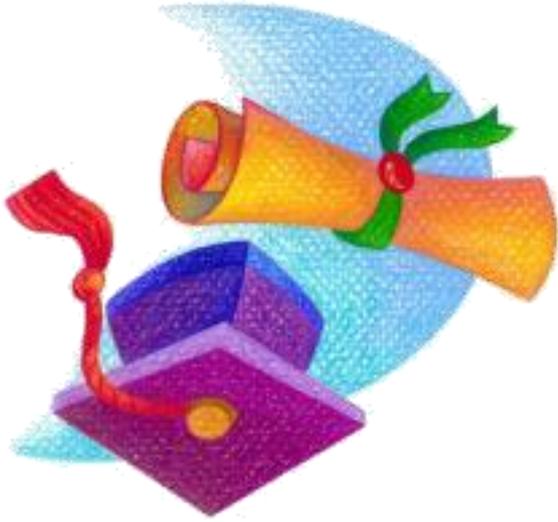
|      |   |     |
|------|---|-----|
| I.   | Profile épidémiologique des patients atteints de myélome multiple .....   | 83  |
| II.  | Etude épidémiologique sur la place de l'autogreffe dans la prise en charge des patients atteints de myélome multiple..... | 92  |
| III. | Enquête ethnobotanique sur l'utilisation de pissenlit dans la région Ouest d'Algérie.....                                 | 95  |
| IV.  | Caractérisation de la plante.....   | 99  |
| V.   | Evaluation de la toxicité aigüe des racines de pissenlit (Taraxacum Officinale).....                                      | 107 |
| VI.  | Evaluation de l'activité anti-myélomateuse de Taraxacum Officinale.....   | 111 |
| VII. | Discussion générale.....  | 124 |

**Conclusion .....**143

**Références bibliographiques.....**146

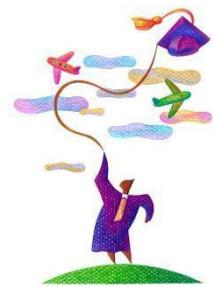
**Annexe**

**Articles scientifiques**



# ***INTRODUCTION***

## ***GÉNÉRALE***



Le myélome multiple (MM) également maladie de Kahler est une hémopathie maligne qui se caractérise par la multiplication dans la moelle osseuse des plasmocytes tumoraux avec souvent la sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale (chaîne légère libre) (**Anne C, Michel A D, 2013**).

Le myélome multiple représente 80% des gammopathies monoclonales malignes et environ 10% des cancers hématologiques et environ 2% de tous les décès par cancer (**Smith et al, 2013**). La plus forte incidence est enregistrée dans les régions industrialisées d'Asutralie, Nouvelle Zelande, Europe et Amérique du Nord (**Nicolaus, 2011**).

Le myélome multiple (MM) touche un peu plus d'hommes (45%) que de femmes (46%), l'âge médian au moment du diagnostic est d'environ 70 ans. D'autre part, il peut toucher les sujets jeunes avec un pourcentage de 2.8% (**Facon T, 2006**).

L'incidence annuelle en Algérie est de 0.9 à 1.1/100 000 habitants par an (**Bekadja MA et al, 2009 ; M Saidi, 2013**).

L'étiologie du myélome multiple reste encore inconnue, plusieurs publications ont été consacrés aux facteurs de risques, des conclusions souvent incertaines et controversées (**Facon T, 2006**). Le seul facteur de risque clairement identifié est l'exposition aux radiations ionisantes (**S. Manier, X Leuleu, 2011 ; Kayel RA, Raykumar SV, 2013**). Une étude cas-témoins réalisée par Dalus Baris et al en 2004 révèle que l'exposition professionnelle aux pesticides ne présente pas un risque accru de myélome multiple tandis que certains virus animaux peuvent être impliqués dans le risque de MM pour les travailleurs d'élevage ou les résidents (**Dalus B et al, 2004**).

Le myélome multiple se manifeste par des douleurs causées par des atteintes osseuses (58%), une anémie (73%), une hypercalcémie (13%) et une insuffisance rénale (20 à 40%) (**Lambach J et al, 2016 ; Kyle RA et al, 2003**).

Les critères de diagnostics ont été actualisés par « international Myelome Working Groupe » en 2013. Cependant, les critères reposent sur l'infiltration médullaire plasmocytaire monoclonale ensuite l'identification du type de myélome s'il s'agit d'un myélome symptomatique où asymptomatique, la détermination des infections et le syndrome d'hyperviscosité (**Anne C, Michel A D, 2013**).

La majorité des patients atteints de myélome multiple passent par un état transitoire pré-myélomateux dont les principaux types sont la gammopathie monoclonale indéterminé (MGUS) et le myélome multiple asymptomatique (**Jean Batiste et al, 2012**).

La biologie joue un rôle important dans le diagnostic et la prise en charge des patients myélomateux. Les examens biologiques permettent la classification des patients en différents groupes dont découle la prise en charge et le suivi thérapeutique. Le bilan initial des patients myélomateux comprend une analyse de la formule de numération sanguine (FNS), un frottis de sang périphérique, un examen de chimie complet comprenant le dosage des électrolytes, le dosage de l'albumine ainsi l'évaluation de la fonction hépatique et rénale (**Anne C, Michel A D, 2013**).

D'autre part, le diagnostic de myélome multiple repose sur une définition précise : la présence d'une immunoglobuline monoclonale sérique ou urinaire, une plasmocytose médullaire avec un taux  $\geq 10\%$  et /ou la présence de lésion organique directement attribuables aux plasmocytes dystrophique (**Kyle RA, Rajkumar SV, 2009**). Cependant, l'électrophorèse des protéines sériques et urinaires, l'immunofixation sérique et le dosage des chaînes légères libres sériques sont très important pour le diagnostic de myélome multiple (**Anne C, Michel A D, 2013**).

Malgré le développement de nouvelles approches thérapeutiques, le myélome multiple reste encore une pathologie incurable et devient progressivement résistantes à tous les traitements (**G. Foquet et al, 2017**).

Le traitement du myélome multiple est basé sur plusieurs protocoles, le choix du traitement dépend de l'âge, de l'état général du patient et des critères pronostiques de myélome multiple (**G. Foquet et al, 2017**), les critères symptomatiques ou non et les anomalies génétiques détectées (**Riccardi et al, 2000**).

Le traitement du MM repose sur l'utilisation de plusieurs substances. Cependant, on cite agents alkylants et corticostéroïdes, inhibiteurs de protéasome, bisphosphonate et immunomodulateurs (**Anne C, Michel A D, 2013**).

D'autre part, l'autogreffe reste le traitement de première ligne chez les sujets de moins de 65 ans (**Alexis G, 2016**).

Ces dix dernières années, sont apparues des médicaments très performants, issus du règne végétal comme les dérivés du taxotère ou de la camptothécine. Le recours à la médecine alternative est largement répandu et plusieurs remèdes naturels à base de plantes ou bien de fruits utilisés en combinaison avec les traitements chimio thérapeutiques sont recommandés pour le traitement des hémopathies malignes. En effet il y'a environ 500.000 espèces de plantes qui renferment des propriétés médicinales (**Quyoun, A, 2003**).

Parmi des milliers de plantes on s'est intéressé à l'évaluation de l'effet thérapeutique du pissenlit.

Le pissenlit est une plante comestible et médicinale que l'on peut trouver tout au long de l'année, elle fait partie des plantes sauvages, elle poussera un peu partout, on la trouve généralement dans les régions tempérées du monde (**Katy D et al, 2018**).

Cette plante fait partie de la famille des Asteraceae que l'on trouve naturellement en Europe, Amérique du Nord et du Sud et en Asie (**S.Quershi et al, 2017**) et qui fait partie de la liste des plantes médicinales d'intérêt pour SNS (RENISUS) (**Faria.T et al, 2019**).

Les études phytochimiques ont démontrés la présence des phénylpropanoïdes, polysaccharides (**Eric et al, 2019**), des flavonoïdes, des acides hydroxycimaniques, d'acide chlorogénique, des coumarines, les feuilles sont riches en vitamines dont  $\beta$  carotène, elles contiennent également la choline et les oligo-éléments dont essentiellement le fer, le magnésium, le silicium, le sodium, le potassium, le cuivre, le zinc et le phosphore (**Tabassum F et al, 2018**). D'autres part, les racines sont riches en glycosides amers, tanins, stérols, huiles volatiles, taraxacine, taraxacérines, triterpènes, asparagine et insuline (**Sheezan R ; Bharti S, 2014**).

Les vertus de cette plante poussent les chercheurs à faire des études afin de tester les différentes activités que possède cette dernière. Ces recherches sont principalement liées à l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antidiabétique.

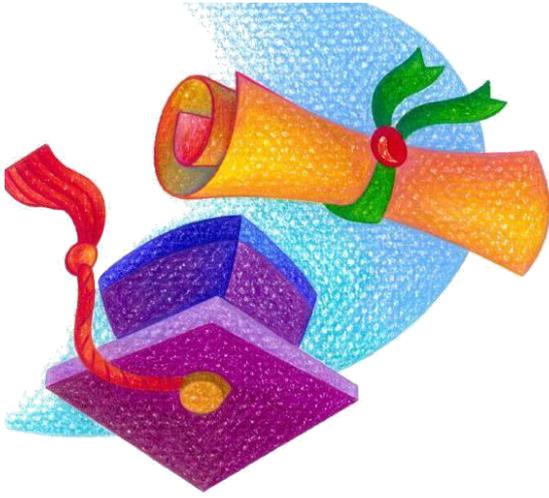
Les études toxicologiques qui portent sur le pissenlit sont très limités, cependant il existe quelques recherches qui ont montré une légère hypotension ainsi que la possibilité de dermatite de contact chez les personnes qui présente une hypersensibilité vis-à-vis les lactones (**Fariat et al, 2019**).

C'est à la lumière des travaux suscités que nous nous sommes intéressé à étudier cette plante et voir l'intérêt thérapeutique qu'elle peut apporter pour limiter l'évolution voir même guérir le myélome multiple. Nous avons évalué l'activité anti-myélomateuse de cette dernière chez le rats wistar rendu myélomateux.

Afin de répondre à nos suppositions de départ nous avons fixé une série d'objectifs secondaires suivant l'ordre chronologique ci-après :

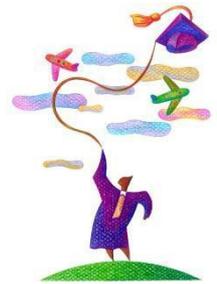
- ✚ Etudier le profil épidémiologique, clinique, biologique et biochimique des patients myélomateux et voir l'intérêt des dosages sériques et urinaires dans le diagnostic et le suivi thérapeutique du myélome multiple.
- ✚ Voir la place de l'autogreffé dans la prise en charge des patients souffrant du myélome multiple.

- ✚ Réaliser une enquête pharmacobotanique sur l'utilisation de pissenlit dans la région Ouest d'Algérie
- ✚ Identifier les différents composants et évaluer l'activité antioxydante des racines et des feuilles de pissenlit
- ✚ Vu l'absence d'études toxicologiques concernant les extraits à base de pissenlit nous nous sommes proposé de réaliser une étude expérimentale pour évaluer la toxicité aiguë d'extrait de racines de pissenlit



# Chapitre I

## Myélome multiple



## I. Cancer

Le cancer est une maladie caractérisée par une dérégulation des mécanismes de division cellulaire d'un organisme (Vidal M et al, 2001). La croissance cellulaire incontrôlée affecte le fonctionnement normal de la machine biologique, et peut aboutir à des déficiences graves d'un ou plusieurs organes vitaux . Il se révèle réellement que les cancers sont devenus la première cause de mortalité dans les pays développés (Djamel A et al, 2005).

Le nombre de nouveaux cas de cancer enregistrés chaque année en Algérie est de 53076 et plus de 29000 décès selon les derniers chiffres du Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), qui dépend de l'OMS. En 2018, 18.1 millions de nouveaux cas et 9.6 millions de décès enregistré à l'échelle mondiale (GHRIEB S ; MEBARKI F, 2019).

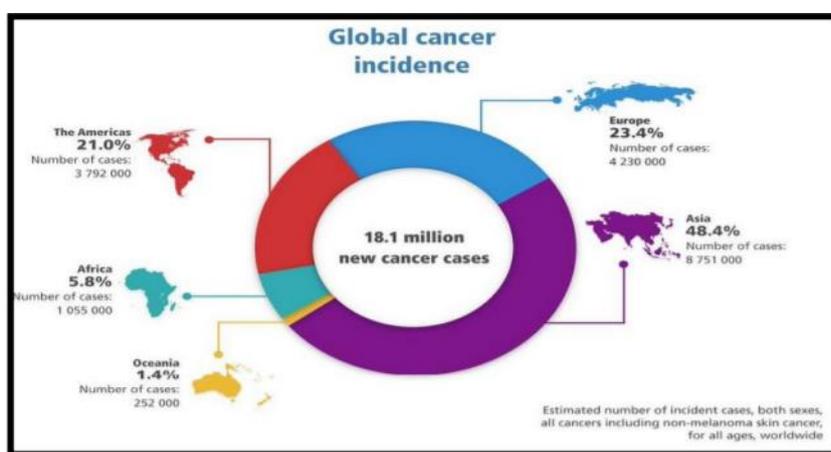


Figure N°1 : L'incidence du cancer dans le monde en 2018 (Ghrieb S ; Mebarki F, 2019).

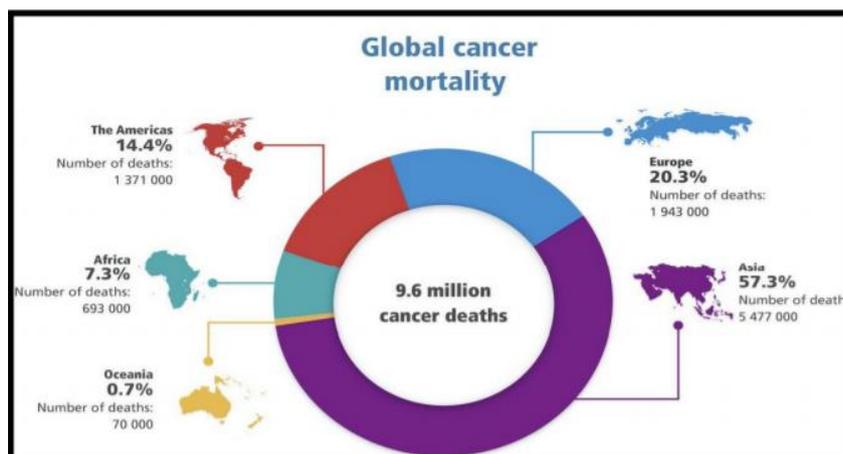


Figure N°2 : la mortalité par cancer dans le monde en 2018 (Ghrieb S ; Mebarki F, 2019).

En Europe l'estimation des nouveaux cas est de 1.43 millions cas pour les hommes et 1.21 millions cas pour les femmes avec 716 000 décès pour les hommes et 561 000 décès pour les femmes (**J,schuz et al, 2015**).

- **Mécanisme du développement tumoral**

Les tumeurs malignes sont décrites comme étant monoclonale c'est-à-dire chaque tumeur provient d'une seule cellule (**Miller EC ; Miller JA, 1979**). Il existe plusieurs mécanismes qui permettent de réguler la population des cellules en favorisant leur prolifération (les gènes codant ainsi pour la division cellulaire sont appelés proto-oncogènes), ou au contraire en la freinant (les gènes correspondants sont appelés suppresseurs de tumeurs) (**Pardee A.B et al, 1978**).

D'autre part, l'ensemble de ces mécanismes permet de garder l'équilibre entre le nombre de cellules mortes et le nombre de cellules résultantes de la division cellulaire. Lorsqu'il y'a un déséquilibre cela conduit à une multiplication anarchique de certaines cellules, lesquelles peuvent se concentrer, formants des tumeurs (**Sporn M.B, 1996**).

Les particularités des cellules tumorales sont liées à des mutations d'un ou de plusieurs proto-oncogènes, qui sont alors appelés oncogènes. Ces altérations sont le plus souvent acquises au cours de la genèse tumorale (**Cantley L.C et al, 1991**). Le développement tumoral est souvent dû à une surexpression de protéines exprimées par les proto-oncogènes mutés en oncogènes ou bien par la mutation d'un ou de plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs, aboutissant à la diminution ou la disparition de biomolécules chargées de réparer ou d'éliminer les cellules endommagées (**Weinberg R.A, 1991 ; Greenblatt M.S et al 1994**).

## **II. Myélome multiple**

### **II.1 Définition**

Le myélome multiple (MM), également appelé maladie de Kahler, est une hémopathie maligne classée selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) parmi les tumeurs à cellules B matures sous la rubrique « plasma cellneoplasms » (**Swerdlow et al, 2008**).

Le myélome multiple est une affection maligne caractérisée par la prolifération clonale de plasmocytes tumoraux envahissant la moelle osseuse, avec souvent la sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale ou un fragment d'immunoglobuline monoclonale (chaîne légère libre) (**HAS, 2010**).

### **II.2 Epidémiologie**

Le myélome multiple représente environ 1% de tous les cancers mondiaux et environ 2% de morts liées au cancer, d'une façon générale, l'incidence augmente rapidement avec l'âge, et les hommes sont les plus touchés, le ratio étant de 2/3. La médiane d'âge est de 72 ans, mais

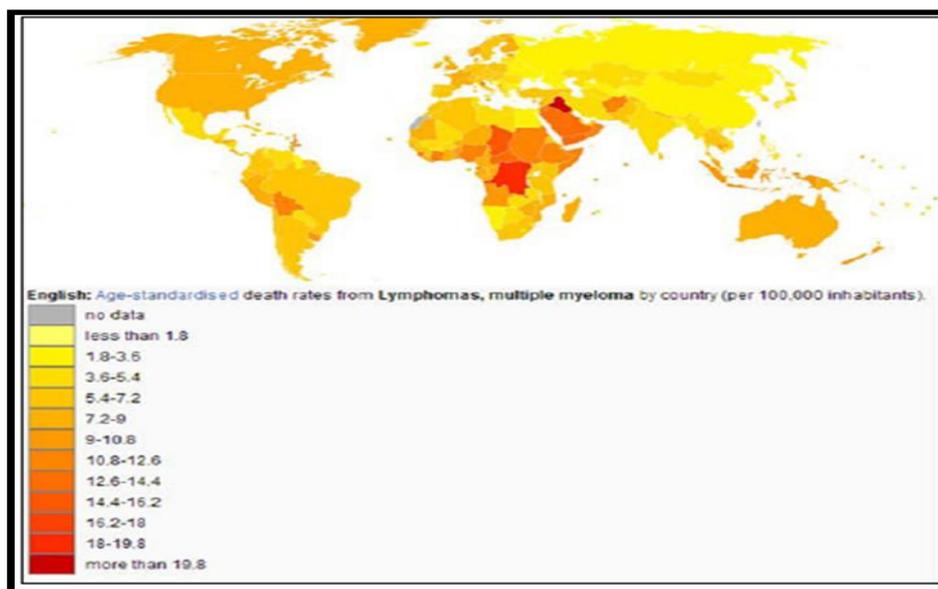
se traduit à 65 ans dans les séries hospitalières, la survenue chez des adolescents et de jeunes adultes reste exceptionnelle (S. Manier, X. Leleu, 2011).

Les Afro-Américains semblent être au plus haut risque pour la maladie, alors que les Asiatiques sont au plus faible risque. Une étude a montré que l'incidence du myélome chez les Afro-Américains est de 9,5 par 100.000 personnes tandis que parmi les Américains Caucasiens, les tarifs sont de 4,1 pour 100,000 personnes.

Dans la population Afro-Américains, le myélome est parmi les dix principaux cancers entraînant la mort (M. Ananya, Mandal, DM, 2020).

L'incidence annuelle en Algérie est de 0.9 à 1,1 /100.000 habitants/ an avec une augmentation du nombre de cas des sujets jeunes moins de 65 ans (Bekadja MA, 2009 ; M. Saidi, 2013).

La prévalence de MM chez les sujets moins de 65 ans en Algérie est de 64% (Bekadja MA, 2009). Le MM est plus fréquent chez l'homme que chez la femme avec des incidences respective de 5,3/100.000 h/an et de 3,5/100.000 h/an (Brown LM et al, 1999). Le sexe ratio en Algérie est de 1,4 (Bekadja MA, 2009).



**Figure N°3 : Mortalité ajustée à l'âge par lymphomes et myélomes multiples pour 100 000 habitants (Persons, all ages, 2009)**

### II.3 Etiologie

L'étiologie du MM est pour l'instant inconnue et aucun facteur de prédisposition n'est actuellement identifié (Charlot-Lambreacht I et al, 2011). Le seul facteur de risque clairement identifié est l'exposition aux radiations ionisantes. Les pesticides utilisés dans les professions

agricoles ont été aussi incriminés. Il existe des cas familiaux, faisant discuter des facteurs génétiques (**S. Manier, X. Leleu, 2011 ; Kayel RA, Rajkumar SV, 2007**).

Le myélome multiple est la conséquence de plusieurs événements oncogéniques concernant la lignée lymphocytaire B. L'apparition du myélome est liée à la survenue d'événements chromosomiques et moléculaires supplémentaires comme la translocation t(4;14), la surexpression de l'oncogène c-Myc, la mutation ponctuelle de N-Ras observée dans 50% des cas au diagnostic et dans 80% des formes avancées, ou encore la mutation ponctuelle de l'anti-oncogène p53 retrouvée dans 30% des myélomes avancées. Les plasmocytes présentent de nombreuses anomalies cytogénétiques dont aucune n'est constante ou spécifique du MM.

L'IL6 joue un rôle primordial dans la prolifération tumorale. Elle induit la différenciation des cellules B en plasmocytes et inhibe leur mort par apoptose. C'est le facteur de croissance essentiel des cellules myélomateuses (**Charlot-Lambreacht I et al, 2011**).

#### **II.4 Physiopathologie**

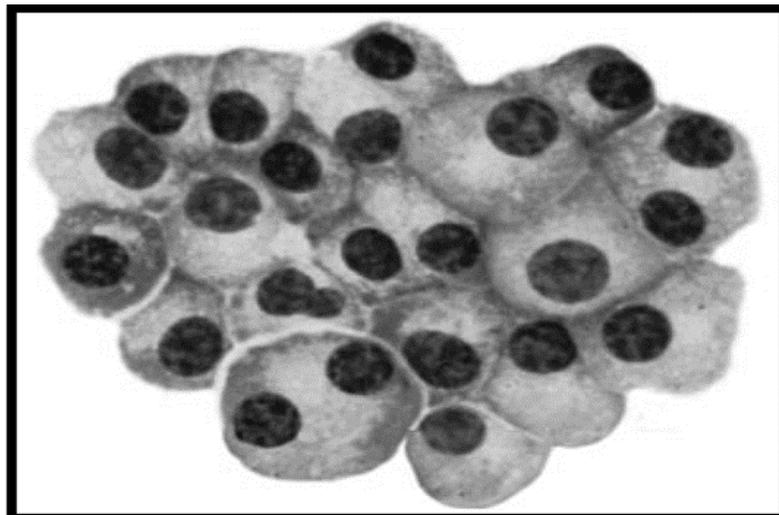
Le MM est caractérisé par l'émergence et l'accumulation dans la moelle osseuse d'un clone de plasmocytes malins. Des modèles de plasmocytomes murins ont permis de progresser dans la compréhension des processus d'oncogenèse du plasmocyte.

Aux stades initiaux du MM, la croissance tumorale se fait surtout par accumulation cellulaire et repose sur l'inhibition de l'apoptose. L'évolution de la maladie est marquée par des modifications phénotypiques, cytogénétiques et médullaires des cellules myélomateuses.

Ces modifications se traduisent par une capacité croissante de prolifération du clone plasmocytaire (**Chaibi et al, 2000**).

##### **a. Nature de la cellule souche tumorale**

La cellule cytologiquement reconnue tumorale dans le MM est le plasmocyte qui s'accumule dans la moelle osseuse (Figure N°4)



**Figure N°4 : Plasmocyte (cellule myélomateuse) (Christian Berthou, 2004)**

Les plasmocytes sont des lymphocytes B, ils se trouvent normalement dans tous les tissus, sauf dans le sang. Ce sont des cellules basophiles, hormis à proximité de leur noyau, région qui est nommée archoplasme. Cette basophilie est due à la présence de chromatine dans le noyau.

Ces cellules sont productrices d'anticorps, et elles sont le stade final de différenciations des lymphocytes B. A la différence d'autres lymphocytes B qui présentent leurs anticorps au niveau de leur surface membranaire, les plasmocytes sont capable de produire des anticorps solubles. De plus, ces cellules se caractérisent par une incapacité de prolifération (contrairement aux autres stades d'activation des lymphocytes). Le marqueur les caractérisant et l'expression du CD138 ou syndecan-1 un récepteur de la matrice extracellulaire. Les lymphocytes B matures migrent de la moelle osseuse vers la rate. Après activation par leur rencontre avec l'antigène, elles se différencient en plasmocytes responsables de la production des anticorps.

Les cellules tumorales du MM ont un phénotype de plasmoblaste mais la nature du précurseur myélomateux reste inconnue **(El Mezouar L, 2010)**.

La principale caractéristique des cellules myélomateuses est la production et la sécrétion dans le sang et / ou les urines d'une protéine monoclonale. Lors de l'évaluation d'un myélome, il est primordial de savoir si les cellules myélomateuses du patient produisent beaucoup, peu ou ne secrètent pas de protéine libérée dans le sang ou les urines. Une fois la relation entre le taux d'une protéine particulière et la charge de la tumeur. Cette protéine monoclonale est parfois appelée protéine myélomateuse, para-protéine ou pic-monoclonale. Cette dernière dénomination est liée à l'aspect du tracé électrophorétique **(El Mezouar L, 2010)**.

### II.5.2 Origine de la cellule myélomateuse

La nature exacte de la cellule à l'origine du MM reste mal connue. Elle est vraisemblablement, comme c'est le cas pour de nombreuses tumeurs B. Centrogerminative ou post-centrogerminative, c'est-à-dire postérieures aux évènements de mutations somatiques de sélection et de commutations isotypique. En effet la protéine monoclonale impliquée est en générale une IgG (60% des cas), seulement très rarement une IgD (1 à 2% des cas) et exceptionnellement une IgM. L'expression d'une Ig commutée constitue un argument fort en faveur du caractère post-centrogerminatif de la cellule (**J. Feuillard et M. Raphaël, 2000**).

La cellule à l'origine du MM représente une (ou plusieurs) anomalie(s) dans son génome, mais reste apte à migrer dans la moelle osseuse et à se différencier en plasmocyte sécrétant une Ig. Il existe chez un même patient des populations de cellules myélomateuses de différents degrés de maturité. Il est probable que la fraction plus immature de ces cellules, qui est la fraction proliférante, soit capable d'auto renouvellement et soit ainsi responsable de l'expansion du clone malin. L'existence d'un stade plasmoblastes hautement proliférants au cours de la différenciation plasmocytaire physiologique est en faveur de cette hypothèse. Ainsi, la majorité des cellules myélomateuses ne constituent pas un compartiment de cellules tumorales prolifératives mais un compartiment d'accumulation de cellules plasmocytaires matures, alimenté par un petit compartiment de cellules tumorales prolifératives immatures (plasmoblastes) (**G. Jego et al, 1999**).

La cause de la prolifération plasmocytaire maligne n'est pas connue, mais une instabilité génétique est vraisemblablement impliquée, se manifestant par des erreurs au cours des modifications spécifique de l'ADN des cellules B que sont la recombinaison VDJ, le switch de classe d'Ig, ou l'hypermutation somatique. Ces erreurs peuvent conduire à des réarrangements chromosomiques dont la résultante est une activité cellulaire anormale traduisant la malignité.

Finalement les étapes d'apparition du myélome pourraient être la stimulation antigénique, la sélection d'un clone anormal, l'expansion de ce clone et la progression vers la malignité à la suite d'évènements génétiques comme l'activation d'oncogène (**G. Jego et al, 1999**).

### II.5.3 Oncogenèse

L'existence d'anomalies cytogénétiques nombreuses et complexes, numériques et structurales, est une des caractéristiques du MM, et concourt sans doute à l'oncogenèse et à sa résistance au traitement (**T. Facon et al, 2003 ; Bergsagel PL, Keuhel WM, 2001**).

Parmi ces anomalies, les translocations chromosomiques impliquant le locus des chaînes lourdes d'immunoglobuline (IgH), localisé sur le chromosome 14 (14q32) en particulier la translocation (4 ; 14) (p16 ; q32) (10% des patients) avec surexpression du récepteur 3 pour le FGFR3 (fibroblast growth factor) et de MMSET qui constitue un facteur de mauvais pronostic (**T. Facon et al, 2003 ; Moreau P et al, 2002**).

Des anomalies de nombre peuvent occasionner la perte de gènes suppresseurs de tumeurs, comme c'est le cas dans une autre aberration chromosomique essentielle, la délétion totale ou partielle du chromosome 13 (-13/ 13q). Certaines associations entre réarrangement 14q32 et anomalie -13/13q- sont également retrouvées. Ainsi, 85% des patients avec une translocation t (4 ; 14) présentent une délétion du chromosome 13 et ces patients sont souvent d'isotype A, avec une  $\beta 2m$  basse (**Avet Loiseau et al, 2002**).

D'autres altérations moléculaires ont été rapportées, telles des mutations (ras, p53), des méthylations de promoteur de gènes suppresseurs de tumeur (p15, p16) ou phosphorylation d'un oncogène (STAT3). Des mutations activatrices dans les codons 12, 16, 61 des gènes K-ras et N-ras sont présentes chez 10 à 40% des patients au diagnostic et 70% des patients en rechutes (**Bezieau S et al, 2001**). Elles sont associées à une forte masse tumorale, et constitue un facteur pronostic péjoratif de survie (**T. Facon et al, 2003 ; Liu P et al, 1996**).

Les mutations portant sur le gène p 53 sont retrouvées chez 2 à 20% des patients, et sont associées à la phase terminale de la maladie (**Neri A et al, 1993**).

## **II.5 Conséquences clinico-biologiques et physiologie du myélome multiple**

Les éléments cliniques qui caractérisent le MM peuvent être présents dès le diagnostic, ou apparaître au cours de l'évolution de la maladie. Différents symptômes généraux, non spécifiques mais habituels et précoces sont présents tels qu'une altération de l'état général. A côté de cela, le MM se manifeste par des symptômes plus spécifiques, notamment osseux et rénaux (**Sfiridaki et al, 2011**).

### **II.5.1 : Atteinte osseuse**

Une grande partie de la morbidité du myélome est imputable à des douleurs osseuses et des fractures pathologiques en raison d'un déséquilibre de formation et de résorption de la trame osseuse. Elles résultent d'une augmentation de l'activité ostéoclastique au contact des plasmocytes. En effet, ces derniers stimulent la sécrétion de cytokines activatrices des ostéoclastes, telles que les interleukines (IL) : IL-6, IL-1 et le TNF- $\beta$  ou encore les MIP-1a, MIP-1b (macrophages protein inflammatoire) aboutissant à une augmentation à la résorption osseuse avec ostéolyse diffuse ou multifocale. De plus, il existe une dérégulation du système RANK-

RANK-L (Reseptor Activator of Nuclear Factor-K) et ostéoprotégérine (système essentiel dans l'activation et la différenciation des ostéoclastes) **c**

Le récepteur RANK est présent à la surface des ostéoclastes et appartient à la famille des récepteurs au TNF. L'agoniste de ce récepteur RANK est RANK-L (RANK- ligant), protéine exprimée et libérée par les ostéoblastes et par les lymphocytes T. L'activation du récepteur RANK induit la maturation et l'activation des ostéoclastes et provoque une résorption osseuse attribuant à l'apparition de l'ostéoporose.

Les douleurs osseuse sont fréquemment révélatrices du MM, et concernant environ 70% des patients au moment du diagnostic. Elles sont localisées principalement au rachis et aux cotes, évocatrices quand elles sont diffuses (**Bouscary et al, 2003**).

### **II.5.2 : Atteinte rénale**

Les atteintes rénales sont fréquentes au cours des proliférations plasmocytaires et lympho-plasmocytaire. Elles résultent le plus souvent de la précipitation ou du dépôt tissulaire d'une immunoglobuline monoclonale complète ou d'une chaîne monoclonale isolée, légère ou lourde. On distingue deux catégories d'atteintes, en fonction des données de la biopsie rénale et notamment de la nature, de la localisation et du caractère organisé ou non des dépôts ou inclusions d'Ig en microscopie électronique (ME) (**Preud'homme et al, 1994**).

#### **a. Le groupe des néphropathies à dépôts organisés d'Ig monoclonales :**

Comprend des atteintes tubulaires et glomérulaires. Les néphropathies tubulaires, liées à la précipitation intratubulaire ou intracellulaire de CL monoclonales formant souvent des cristaux, sont représentées par la néphropathie à cylindres myélomateux (NCM) et le syndrome de Fanconi (SF). Les atteintes glomérulaires sont caractérisées par des dépôts organisés soit en fibrilles (amylose immunoglobulinique à CL et exceptionnellement à chaîne lourde), soit en microtubules (glomérulopathies à dépôts microtubulaires d'Ig monoclonales et glomérulonéphrites des cryoglobulénémies de type I et II).

#### **b. Néphropathies à dépôts non organisés d'Ig monoclonales :**

Constitué de néphropathies glomérulaires, les dépôts d'Ig monoclonale, dits amorphes ne présentent pas d'organisation ultra-structurale. Il s'agit essentiellement de la maladie de dépôts d'Ig monoclonale de type Randall. Plus récemment, il a été décrit des glomérulopathies à dépôts non organisés d'Ig monoclonale, différentes du syndrome de Randall par localisation et la nature des dépôts d'Ig et ressemblant à une glomérulonéphrite à dépôts de complexes immuns (**Moumas et al, 2011**).

Si la physiopathologie des complications rénales des gammopathies monoclonales reste mal connue, de nombreux arguments suggèrent que les caractéristiques physicochimiques des Ig, notamment de leur domaine variable, jouent un rôle majeur dans leur néphrotoxicité (**Ronc P al, 2011**).

Dans de rares cas, c'est l'activité d'anticorps de Ig monoclonale qui est à l'origine de l'atteinte rénale (par exemple : activité anti-facteur H du complément) (**Jokiranta et al, 1999**).

A l'exception de la NCM, compliquant typiquement un myélome multiple de forte masse tumorale, les néphropathies associées aux gammopathies monoclonales sont souvent révélatrices d'une prolifération plasmocytaire ou lymphoïde de faible grade. Le pronostic rénal dépend alors de la précocité du diagnostic et le pronostic vital dépendant du type et de la diffusion des atteintes viscérales, en particulier dans l'amylose AL. Des progrès récents dans le diagnostic, le traitement et le suivi de l'efficacité de la chimiothérapie (dosage des CL libres sériques) ont permis d'améliorer le pronostic de ces néphropathies (**Moumas et al, 2011**).

### **II.5.3 : Infection**

La diminution des immunoglobulines polyclonales est très fréquente au cours du myélome multiple. Elle est le reflet d'une suppression des lymphocytes B CD19+ et affecte spécifiquement les stades précoces et tardifs de la différenciation normal B. L'effet de l'immunosuppresseur de TGF $\beta$  sur les cellules B, et l'absence de signaux accessoires des cellules B provenant des cellules T Helper sont les mécanismes les plus souvent impliqués (**Hargreaves et al, 1995**).

Outre le déficit de l'immunité humorale, la survenue des infections est favorisée par un déficit de l'immunité cellulaire (LT, cellule NK), la corticothérapie à fortes doses et la neutropénie induite par la chimiothérapie. On observe le plus souvent des infections bactériennes pulmonaires (pneumocoque, Hémophiles Influenza), urinaires ou encore des septicémies à gram négatif (**Paradisi et al, 2001**).

### **II.5.4 : Signes neurologiques**

L'atteinte neurologique majeure dans le MM reste l'atteinte médullaire centrale, le plus souvent par compression liée à une fracture vertébrale mais aussi à une épидурite tumorale ou un plasmocytome. La symptomatologie d'apparition brutale se manifeste par un syndrome sous-lésionnel (syndrome pyramidal, troubles sensitifs et trouble sphinctériens). Les atteintes du nerf périphérique ne sont pas à négliger du fait de leur fréquence élevée, de la morbidité qu'elles impliquent et leur caractère parfois irréversible (**Vital, 2001**).

Le plus fréquemment, il s'agit d'une poly-neuropathie sensitive plus ou moins associée à des douleurs de type neuropathiques, en particuliers les poly-neuropathies iatrogènes notamment après traitement incriminé. D'autres causes de neuropathies périphériques, cette fois liées à la dysglobulinémie, doivent être évoquées, notamment une amylose AL, une activité cryo-globulinémique ou anticorps anti-nerf de l'immunoglobuline monoclonale. Enfin il est possible d'observer des neuropathies périphériques d'origine métaboliques dans le cadre d'une insuffisance rénale chronique (**Manier et al, 2011**).

#### **II.5.5 : Syndrome d'hyperviscosité**

Lorsque le taux d'Ig est important, l'hyperprotidémie peut être responsable d'un syndrome d'hyperviscosité et d'une hyper-volémie plasmatique. Différents symptômes sont alors observés comme un syndrome hémorragique par thrombopathie avec des ecchymoses, des épistaxis, des hémorragies intestinales. D'autres symptômes neurologiques comme des céphalées, des troubles de la vision, des bourdonnements d'oreille ou une confusion peuvent accompagner le MM. Il se rencontre rarement dans le MM (2%) (**D. Gramont et al, 1990**).

#### **II.5.6 : Anémie**

L'anémie est présente chez la moitié des patients et peut être révélatrice du MM. Il s'agit d'une anémie normocytaire normochrome peu ou pas régénérative. L'envahissement médullaire par les plasmocytes malins et la présence des cytokines du micro environnement inhibitrice de l'érythropoïèse (action du TNF et de L'IL1) explique d'une part cette anémie. Le syndrome inflammatoire et l'insuffisance rénale avec baisse du taux plasmatique de l'érythropoïétine contribue aussi à l'anémie. Le taux d'hémoglobine se situe le plus souvent vers 10g/dl (**Silvestris et al, 2002**).

#### **II.5.7 : Modifications biochimiques**

L'hypo-albuminémie est due à l'action de l'IL6 qui inhibe un facteur nucléaire qui devrait normalement induire la transcription de gène codant pour la synthèse de l'albumine au niveau des hépatocytes. De même l'augmentation des taux de protéine C-Réactive (CRP) s'explique par la stimulation d'IL6 par un facteur nucléaire dénommé NF-IL6. Ce facteur entraîne la transcription de gène codant pour la synthèse de protéine de la phase aiguë de l'inflammation telle que la CRP (**Klein et al, 1991**).

L'hypercalcémie est principalement due à l'augmentation de la résorption ostéoclastique. Cependant pour certains auteurs le peptide apparenté à la parathormone (PHP), il stimule localement la résorption osseuse en synergie avec les cytokines telles que l'IL6, le

TNF $\beta$ . Le PTHrP peut également majorer l'hypercalcémie en diminuant l'excrétion calcique urinaire (Beaudreuil et al, 1996).

## II.6 : Biologie du myélome

La prise en charge de myélome comprend plusieurs analyses biologiques, indispensable au diagnostic à l'évaluation du pronostic et la décision du thérapeutique (recherche des facteurs de gravité et de comorbidités associées), et au suivi de la pathologie, notamment de la réponse vis-à-vis du traitement.

### a. Numération formule sanguin (FNS)

L'hémogramme ou Numération Formule sanguine (FNS) est un examen important, elle montre une anémie chez la majorité des patients, il s'agit le plus souvent d'une monochrome normocytaire arégénérative

Le plus souvent le taux d'hémoglobine se situe au tour de 10g/dl, il peut exister parfois une leuco-neutropénie et une thrombopénie due à l'infiltration médullaire (San Miguel et al, 2002).

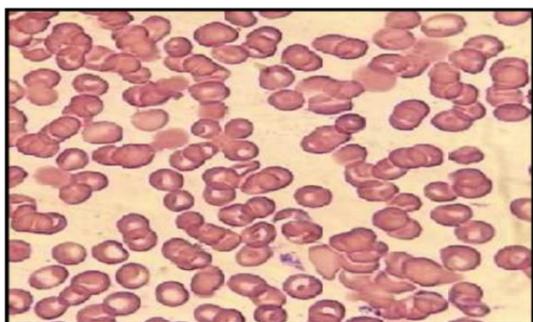
### b. Frottis sanguin

Cette analyse des frottis au microscope reste capitale dans tous les cas pathologiques, notamment en cas de numération globulaire anormale ou chaque fois que l'appareil donne des alarmes. Elle permet la vérification de l'analyse différentielle leucocytaire et l'identification des cellules pathologiques de façon plus précise que celle effectuée par les appareils.

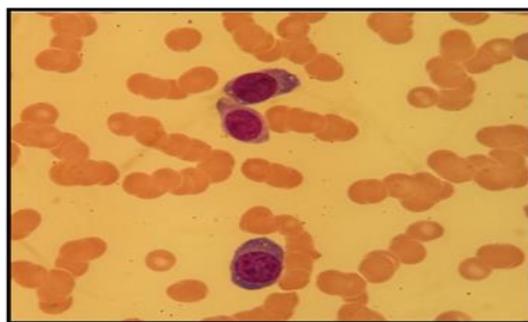
Elle permet aussi une appréciation qualitative des anomalies morphologiques éventuelles des hématies et des plaquettes. La morphologie des éléments sanguins est étudiée après étalement du sang sur une lame de verre.

Dans le cas de myélome multiple le frottis sanguin montre la présence de :

- Hématies en rouleaux témoin d'une hyper-protidémie (Figure N°5)
- Les plasmocytes circulants exceptionnels (Figure N°6)



**Figure N°5 : Hématies en rouleaux (Grossissement  $\times 20$ ) (San Miguel et al, 2006).**

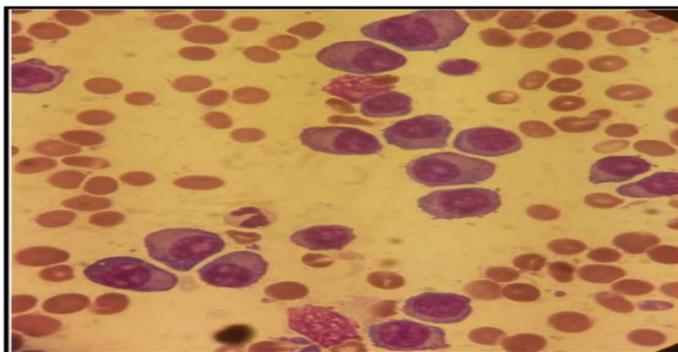


**Figure N°6 : Plasmocytes circulants avec des rouleaux érythrocytaires (Grossissement  $\times 100$ ) (San Miguel et al, 2006).**

### c. Médulogramme

Il permet de quantifier l'infiltration plasmocytaire ( $\geq 10\%$ ) qui est indispensable au diagnostic et de mettre en évidence les anomalies morphologiques nucléaire et cytoplasmique des plasmocytes (figure N° 7).

L'aspiration médullaire comprendra aussi des prélèvements destinés à l'analyse phénotypique et cytogénétique des plasmocytes tumoraux.



**Figure N°7 : Envahissement plasmocytaire médullaire (grossissement  $\times 40$ ) (San Miguel et al, 2006).**

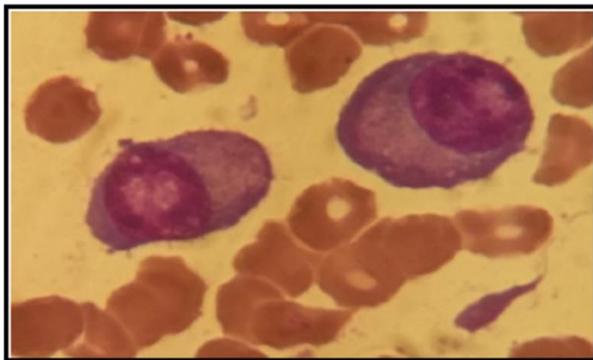
- **Anomalies cytoplasmiques :**

Cytoplasme flammé, vacuoles (figure N°8)

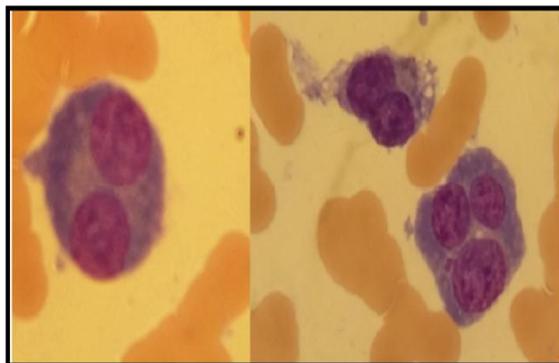


**Figure N°8 : Plasmocyte à cytoplasme flammé avec des vacuoles intracytoplasmique (grossissement  $\times 100$ ) (San Miguel et al, 2006).**

- **Anomalies nucléaires :** plasmocytes à contours nucléaires irrégulier à chromatine finement réticulée, et présence de nucléoles (Figure N°9), à noyaux binucléés ou multi-nucléés (figure N°10)



**Figure N°9: Plasmocyte à chromatine finement réticulée, présence de nucléoles (grossissement  $\times 100$ ) (San Miguel et al, 2006).**

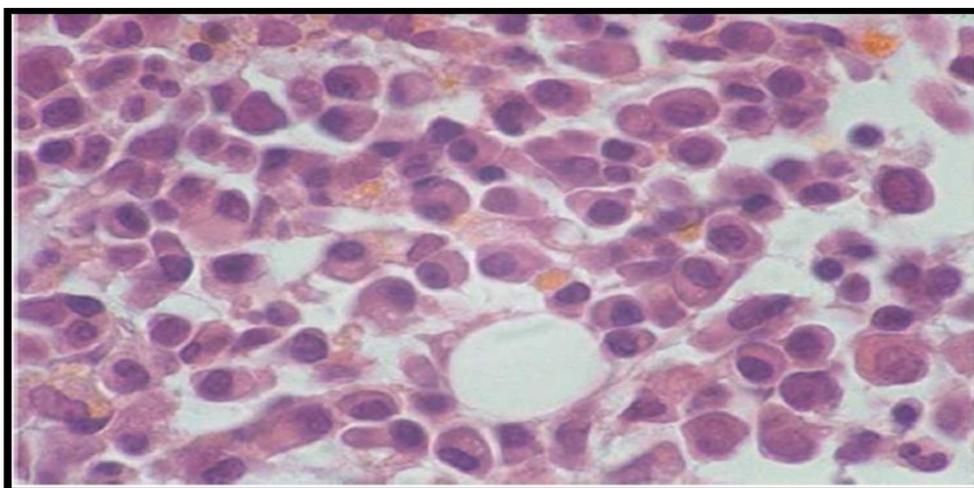


**Figure N°10: Plasmocytes à noyaux binucléés ou multi-nucléés (grossissement  $\times 100$ ) (San Miguel et al, 2006).**

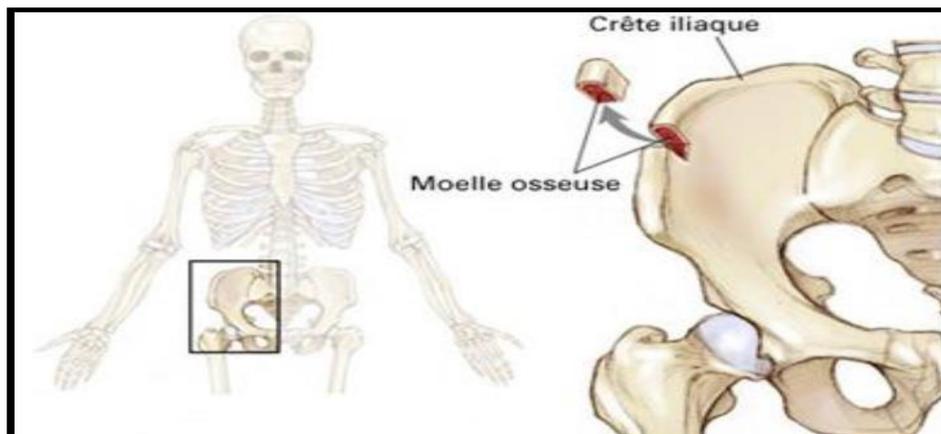
#### **d. Biopsie ostéo-médullaire**

Elle n'est pas recommandée systématiquement, elle n'est réalisée que si le doute persiste après réalisation du myélogramme par ponction sternale et notamment si la ponction médullaire est difficile (myélofibrose) ou si la plasmocytose médullaire est discrète 5 à 10% (figure N°11).

L'analyse anatomopathologique de la biopsie ostéomédullaire fournit des informations sur la structure ostéomédullaire et permet l'analyse de multiples espaces médullaires (figure N°12).



**Figure N°11 : Biopsie ostéo-médullaire (MM) (grossissement  $\times 40$ ) (San Miguel et al, 2006).**



**Figure N°12 : Schéma d'une biopsie ostéomédullaire (Robert M, 2004).**

### e. Exploration d'Ig monoclonale

Sauf s'il est non sécrétant (dans de très rares cas, aucune synthèse ou sécrétion Ig n'a lieu). Le MM est caractérisé par la présence d'une Ig monoclonale dans le sérum ou les urines. La prolifération d'un seul clone plasmocytaire se traduit en effet par la synthèse en grande quantité d'Ig présentant une identité immunologique (protéine-M), et également une identité de charge électrique et de structure, à la base de leur mise en évidence et de leur caractérisation. Le diagnostic du MM est souvent évoqué sur des examens réalisés à partir d'un prélèvement de sang ou bien urinaire (San Miguel et al, 2006).

Lorsque les mesures sont prises dans le sang, toutes les cellules sont retirées de l'échantillon sanguin pour ne laisser que le composant du sang liquide de couleur jaune appelé « sérum ». Plusieurs tests permettent de détecter la protéine M, notamment l'électrophorèse des protéines sériques (EPS), l'électrophorèse des protéines urinaires (EPU) et les analyses de chaînes légères libres sériques (San Miguel et al, 2006).

#### . Analyse du sérum

L'étude des protéines sériques fournit des informations sur le composant monoclonal, la production des Ig polyclonales physiologiques, fréquemment altérée dans le MM, ainsi que sur l'albuminémie, qui peut être diminué (San Miguel et al, 2006).

- **Dosage des protéines totales :**

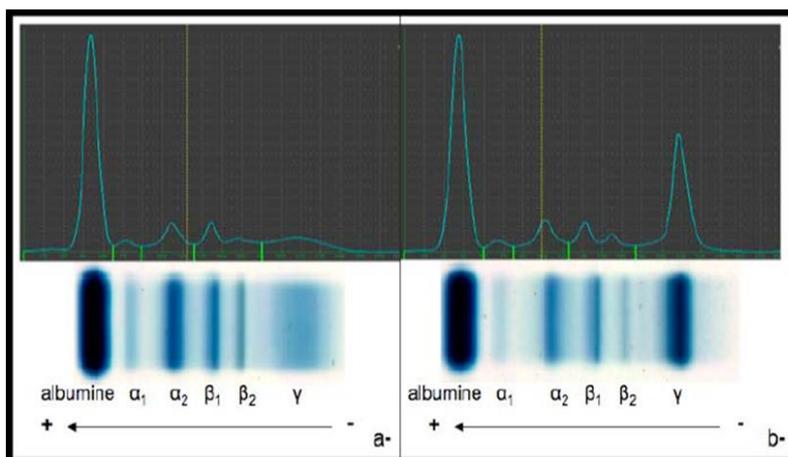
La protidémie est déterminée par la technique du Biuret, c'est un examen de base qui permet de vérifier l'existence d'une gammopathie monoclonale en mettant en évidence une hyper-protidémie souvent supérieur à 100 g/l, atteignant parfois 120-130 g/l, l'hyper-protidémie reflète l'augmentation de la masse protéique circulant dans le sang. Cependant, notons qu'une hypo-protidémie est souvent trouvée dans les MM à chaînes légères (San Miguel et al, 2006).

- **Electrophorèse des protéines sériques**

Examen souvent systématique, l'électrophorèse des protéines sériques (EPS) est effectuée sur membrane d'acétate de cellulose ou en gel d'agarose plus, sensible (**San Miguel et al, 2006**).

L'électrophorèse capillaire plus simple d'utilisation, plus rapide et moins coûteuse et cependant moins sensible que les techniques classiques.

Différentes fractions protéiques sont identifiées selon leur vitesse de migration électrophorétique : albumine puis  $\alpha$ -1 globuline,  $\beta$ - globuline et enfin  $\gamma$ - globuline (figure N°13a). L'analyse est qualitative, par l'examen visuel des bandes et quantitative par intégration densitométrique. Ainsi chaque fraction séparée est représentée par un pic dans la surface est proportionnelle à l'intensité de la « tache » observée. L'ensemble constitue le profil électrophorétique (figure N°13). La concentration de chaque fraction protéique peut être extrapolée à partir de la protidémie (**San Miguel et al, 2006**).



**Figure N°13 : Electrophorèse des protéines sériques (San Miguel et al, 2006).**

Gel de migration et profils obtenus par intégration densitométrique

a : profil normal, b : profile de gammopathie monoclonale

La présence d'une gammopathie monoclonale est caractérisée par la présence d'une bande étroite et dense (mobilité électrophorétique homogène du composant M, du fait de l'identité de charge électrique), soit un pic étroit sur le tracé électrophorétique, migrant le plus souvent dans la zone des  $\gamma$ -globulines (Figure N° 13 b), mais aussi parfois des  $\beta$  - voire des  $\alpha$  2-globulines. Cependant, le pic monoclonal est parfois absent ou discret lorsque le composant M a un poids moléculaire suffisamment faible pour franchir le filtre glomérulaire rénal. C'est le cas dans 15 à 20% des MM qui ne sécrètent que des CLL (myélomes à chaînes légères) (**Greipp et al, 2005 ; The IMWG, 2003 ; Kyle et al, 2003**).

Le tracé électrophorétique permet également de déterminer une éventuelle hypoalbuminémie associée (l'albuminémie est inférieure à 30 g/L dans 15 % des cas) (Kyle et al, 2003) ou encore la présence d'une hypogammaglobulinémie.

Immunofixation ou immunoélectrophorèse des protéines sériques

Une immunoélectrophorèse (IEP) ou une immunofixation (IF) est réalisée devant toute anomalie de l'électrophorèse (pic monoclonal, hypogammaglobulinémie) ou devant la présence de symptômes cliniques évocateurs (EL khalifa Y, 2017).

L'immunofixation est l'examen de choix pour déterminer la présence d'un type donné de protéine monoclonale, mais sans le quantifier, le plus souvent il s'agit d'une IgG.

C'est une méthode de détection par précipitation. Son principe repose sur la mobilité électrophorétique dans un champ électrique et sur le caractère antigénique des protéines (EL khalifa Y, 2017).

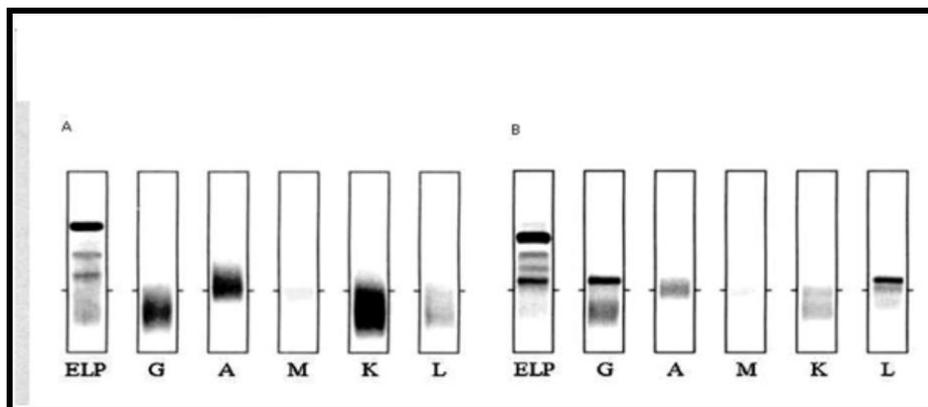


Figure N° 14 : Immunofixation (EL KHALIFA YOUSSEF, 2017).

- **Dosage des chaînes légères circulantes**

Il existe deux types de chaînes légères : kappa ( $\kappa$ ) et lambda ( $\lambda$ ). Dans l'espèce humaine, les chaînes légères  $\kappa$  représentent environ deux tiers des chaînes légères totales. Les chaînes légères sont des chaînes polypeptidiques d'environ 220 acides aminés. Dans le sérum, les CLL kappa sont normalement monomériques, alors que les lambdas forment des dimères. L'association de la chaîne légère à la chaîne lourde masque certains épitopes, qui peuvent être utilisés pour la production d'anticorps anti-CLL, spécifiques (J. Lopez et al, 2006).

La production quotidienne de CLL chez le sujet sain est voisine de 500 mg, à partir des plasmocytes de la moelle osseuse et des ganglions. La moelle osseuse normale contient environ 1 % de plasmocytes. Ce contingent peut atteindre 90 % dans le myélome multiple. Il est également augmenté (5-10 %) lors d'infections chroniques et de maladies auto-immunes, à l'origine d'augmentations polyclonales des CLL sériques.

Le plasmocyte produit un excès d'environ 40 % de chaîne légère par rapport à la chaîne lourde, pour permettre une conformation correcte de l'immunoglobuline totale. Chez l'individu normal, les CLL sériques polyclonales sont rapidement épurées et métabolisées au niveau du néphron : 40 % en 2 à 4 heures pour les chaînes monomériques kappa, 20 % en 3 à 6 heures pour les dimères lambda (**J. Lopez et al, 2006**).

Elles sont filtrées au niveau glomérulaire, totalement réabsorbées par le tubule proximal et 1 à 10 mg par jour sont sécrétés par les muqueuses du tubule distal. Du fait de l'importance de la réabsorption tubulaire proximale, les concentrations urinaires en chaînes légères sont plus dépendantes de la fonction rénale que de la synthèse tumorale.

Le catabolisme tubulaire rénal affecte différemment les concentrations sériques et urinaires au cours de l'évolution d'un myélome multiple à chaînes légères. La concentration de CLL monoclonales sériques augmente parallèlement au développement tumoral. Quand la synthèse dépasse 10-30 g par jour, la réabsorption tubulaire est dépassée et les chaînes légères sont retrouvées dans l'urine (**J. Lopez et al, 2006**).

Ces dernières précipitent au niveau distal causant la destruction du néphron. Des concentrations de plus en plus élevées de CLL doivent donc être filtrées par moins de néphrons, ce qui accélère l'apparition d'une insuffisance rénale. À ce stade, les concentrations sériques augmentent rapidement, alors que les concentrations urinaires diminuent (**J. Lopez et al, 2006**).

Il est possible de doser les chaînes légères libres (CLL)  $\kappa$  et  $\lambda$  dans le sérum en utilisant le test Freelite par technique néphélométrique ou par technique turbidimétrique (**HAS, 2010**). La technique Freelite utilise des particules de latex sensibilisées par des anticorps polyclonaux spécifiques des CLL  $\kappa$  ou  $\lambda$ . Ils sont obtenus par immunisation de moutons par des CLL  $\kappa$  ou  $\lambda$  purifiées à partir d'urine de patients présentant une protéinurie de Bence Jones. Les immunosérums sont ensuite adsorbés en présence d'immunoglobulines G, A et M purifiées (sélection négative) avant d'être purifiés par affinité (sélection positive). Enfin, la spécificité est vérifiée par immunoelectrophorèse, western blot et hémagglutination (**J. Lopez et al, 2006**).

Les valeurs normales sériques ont été définies pour la technique Freelite par Katzmann et al, sur une population de 282 sujets sains âgés de 21 à 90 ans.

Pour le sérum, les CLL  $\lambda$  sont comprises entre 3,3 et 19,4 mg/L, les CLL  $\kappa$  entre 5,7 et 26,3 mg/L et le rapport  $\kappa/\lambda$  entre 0,26 et 1,65. Les concentrations en CLL  $\kappa$  sériques sont donc plus faibles que celles des CLL  $\lambda$  ; cette différence peut s'expliquer par le fait que les CLL  $\kappa$  dimériques sont éliminées moins rapidement que les CLL  $\lambda$  monomériques et donc

s'accumulent dans le sérum. Il faut noter une augmentation conjointe des valeurs normales des CLL j et k chez les patients âgés de plus de 80 ans, mais le rapport  $\kappa/\lambda$  n'est pas modifié (probablement par une diminution de leur clairance rénale).

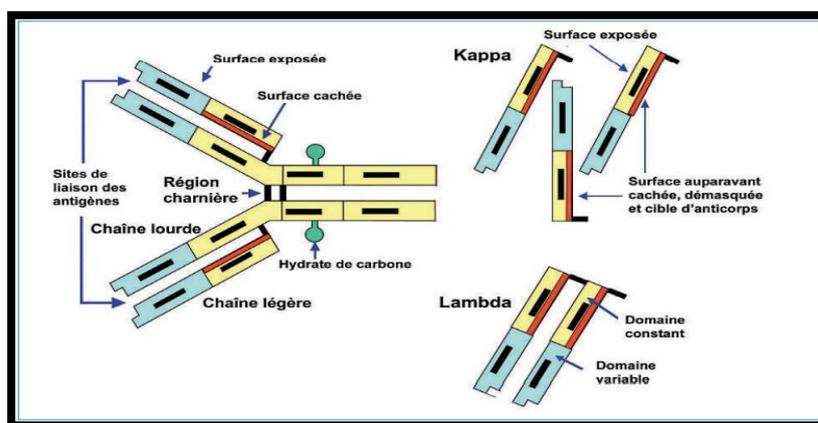
Pour l'urine, les concentrations normales sont comprises entre 1,35 et 24,19 mg/L pour les CLL  $\lambda$  et entre 0,24 et 6,66 mg/L pour les CLL k, avec un rapport  $\kappa/\lambda$  entre 2,04 et 10,37 (J. Lopez et al, 2006).

### e.2. Analyse des urines

Dans le myélome multiple, le test thermique a permis vers 1850 de mettre en évidence dans l'urine les protéines de Bence-Jones qui se sont révélées plus tard être des chaînes légères libres d'immunoglobulines (CLL) (Denis R, 2012).

Le prélèvement des urines de 24 heures s'effectue dans un flacon contenant un conservateur. La recherche des protéines de Bence-Jones est souvent associée à une prise de sang pour une étude des protéines sériques.

Le test thermique, peu fiable, est actuellement remplacé (150 ans plus tard) par un dosage immunochimique. Celui-ci a le grand avantage de pouvoir se pratiquer aussi dans le sérum grâce au développement par Bradwell et coll. D'antisérums contenant des anticorps dirigés uniquement contre des déterminants cachés des chaînes légères (figure N°15). Ceux-ci sont accessibles seulement lorsque les chaînes légères sont à l'état libre (c'est-à-dire non liées aux chaînes lourdes comme dans l'immunoglobuline intacte). Cette technique sensible (de l'ordre de grandeur du mg/l) permet l'étude de la production et de la clairance rénale des CLL dans les conditions physiologiques et pathologiques (Denis R, 2012).



**Figure N°15 : Structure moléculaire d'une immunoglobuline (Denis R, 2012).**

Structure d'une molécule d'immunoglobuline montrant notamment ses chaînes lourdes et légères. De la structure des chaînes légères (k, l) sont représentés notamment les déterminants antigéniques exposés à la surface (surface exposée), communs à la molécule complète et aux

chaînes légères libres (CLL), ainsi que les déterminants cachés dans la molécule complète, mais exposés et cibles d'anticorps dans les CLL (surface auparavant cachée, démasquée et cible d'anticorps).

#### **f. Autres tests biochimiques**

Les autres tests qui peuvent être effectués dans le cadre d'un diagnostic initial, pour suivre l'évolution de la maladie, et pour aider à détecter et à traiter les complications sont les suivants :

- Vitesse de sédimentation (VS)

Il existe une augmentation de la VS souvent supérieure à 100 mm à la première heure avec un profil électrophorétique différent de celui d'un syndrome inflammatoire puisque la fibrine et les  $\alpha$ 2-globulines sont normales. Elle peut être normale ou peu augmentée dans le myélome non ou peut sécrétant et le myélome à chaînes légères.

En effet, l'accélération de la VS reflète un déséquilibre protidique (hyperprotidémie > 60g/l, parfois pouvant dépasser 100g/l) (**San Miguel et al, 2006**).

- Créatininémie

L'atteinte de la fonction rénale est évaluée par le dosage de la créatinémie sérique et la clairance de la créatinine.

Une créatinémie > 20 mg/l ou 175  $\mu$ mol/l est présente chez 20% des patient au moment du diagnostic (**The IMWG, 2003 ; Kyle et al, 2003 ; San Miguel et al, 2006**).

- Bilan phosphocalcique

Une hypercalcémie > 100 mg/l ou 2,75 mmol/l est présente chez 20 à 30% des patients au moment du diagnostic à cause de l'hyper-résorption osseuse (**G. Salles, 2008**).

- Protéine C- réactive

La protéine c-réactive est une protéine qui est effectuée dans le foie et sécrétée systémiquement au cours du processus de l'inflammation en réponse à l'IL-6 inflammatoire de cytokine.

La CRP est souvent augmentée dans le cas de myélome multiple mais elle ne présente pas un marqueur spécifique de l'activité myélomateuse car cette protéine peut être augmentée par de nombreux facteurs (**San Miguel et al, 2006**).

- $\beta$ 2-micro-globuline

La  $\beta$ 2-microglobuline sérique constitue un facteur pronostique essentiel, elle reflète l'importance de la masse tumorale, elle est aussi augmenter en cas d'insuffisance rénale (**Bataille R et al, 1992**).

- **lactate deshydrogénases (LDH)**

Représente un marqueur d'agressivité, L'augmentation du taux de LDH (lactate deshydrogénases) signe le caractère prolifératif de myélome multiple. Les LDH sont augmentées chez 15% à 20% des patients atteints de MM (**San Miguel et al, 2006**).

**f. Examens cytogénétique**

La cytogénétique du myélome multiple a beaucoup évolué ces dernières années avec la possibilité d'enrichissement du prélèvement par un tri cellulaire ciblé permettant d'obtenir des plasmocytes purifiés. La recherche des marqueurs pronostiques s'y effectue majoritairement par techniques d'hybridation in situ, mais d'autres protocoles alternatifs existent. Les cibles les plus recherchées sont la délétion 17p avec perte d'un allèle de TP53 et la translocation t(4;14)(p16;q32) avec réarrangement des gènes FGFR3 et IGH (Daudignon A et al, 2016).

Si l'âge, les comorbidités, l'insuffisance rénale ou l'amylose conduisent à l'adaptation du traitement, le facteur pronostique le plus puissant est certainement lié aux anomalies génétiques présentes dans les plasmocytes malins. Plusieurs anomalies ont été reliées au pronostic, et toutes prédisent une survie plus courte, aucune prédisant une longue survie n'a été encore identifiée (Tableau N°1) (**Hervé A, 2018**).

**Tableau N°1 : Valeur pronostique des principales anomalies chromosomiques (Hervé A, 2018).**

| <b>Anomalies génétiques</b> | <b>Valeur pronostique</b> |
|-----------------------------|---------------------------|
| Del (17p)                   | High Risk                 |
| Del (1p32)                  | High Risk                 |
| t(4;14)                     | Intermediate Risk         |
| 1g gain                     | Intermediate Risk         |
| t(11;14)                    | Neutral                   |

Parmi ces changements chromosomiques à haut risque, le plus puissant est la délétion 17p [del (17p)]. Le second réarrangement chromosomique identifié associé à un mauvais pronostic est la translocation t(4;14). Observée chez 12%-15% des patients, cette translocation est unique au sein des translocations 14q32 observées dans les cancers lymphoïdes B. Premièrement, elle est spécifique du MM. Deuxièmement, elle est la seule à déréguler deux gènes situés à 4p16, FGFR3 et MMSET. Troisièmement, c'est le seul cas montrant un gène de fusion Eμ-MMSET. Même si la dérégulation de FGFR3 conduit à l'oncogenèse dans plusieurs modèles tumoraux, ce n'est probablement pas la principale cible oncogénétique dans le MM (**Hervé A, 2018**).

La raison principale est l'observation que *FGFR3* est perdu chez environ un tiers des patients avec t(4;14), en raison d'une translocation non équilibrée *MMSET* a des propriétés de méthyltransférase, entraînant des changements dans la conformation de la chromatine et la dérégulation de l'accessibilité de la chromatine. Cependant, les changements phénotypiques détaillés de son activation ne sont pas encore identifiés. Même si t(4;14) a été associée à un résultat péjoratif dans plusieurs études, sa valeur pronostique a été contestée dans plusieurs autres publications (**Hervé A, 2018**).

La troisième anomalie associée à un mauvais pronostic est la délétion de la région 1p32, ciblant deux gènes, *FAF1* et/ou *CDKN2C*. Lequel de ces deux gènes est la cible principale de la délétion est actuellement inconnu. Très peu d'études ont analysé l'impact pronostique de cette anomalie (**Hervé A, 2018**).

La quatrième anomalie associée à un risque élevé est le gain de 1q. Cette anomalie, observée chez un tiers des patients, n'est pas spécifique à la MM, mais observée dans de nombreux cancers. Sa (ses) cible(s) moléculaire(s) est (sont) inconnue(s), même si de nombreux chercheurs ont concentré leurs analyses sur le gène *CKS1B* en 1q21, sur la base d'une seule publication ancienne (**Hervé A, 2018**).

Enfin, d'autres anomalies rares ont été rapportées comme aggravant le résultat, telles que les translocations t(14;16) et t(14;20), ciblant les membres de la famille des oncogènes *MAF*. Cependant, ces translocations sont très rares (3% et <1%, respectivement), rendant leur valeur pronostique difficile à établir, même si le t(14;16) fait partie du modèle pronostique R-ISS publié par l'International Myeloma Working Group (IMWG) (**Hervé A, 2018**).

**Tableau N°3 : Recommandations du GFCH pour la prise en charge cytogénétique du myélome multiple (Daudignon A et al, 2016).**

| Myélome multiple   |   |  |
|--|---|--|
| <b>Au diagnostic</b> : recommandé pour tout patient avec intention de traitement |   |  |
| Obligatoire : FISH* sur plasmocytes triés<br><i>Optionnel</i> : Caryotype        |   |  |
| Recommandations  | Marqueurs cytogénétiques                                  | Gènes – Locus  |
| Panel minimum recommandé1 :  | del(17p)<br>t(4;14)(p13;q32)2<br>gain 1q21<br>del(1)(p32) | <i>TP53</i><br><i>FGFR3</i> et<br><i>MMSET/IGH</i><br><i>CKS1B</i> |

|  |   |   |
|--|---|---|
|  |   | <i>CDKN2C, FAF1, FAM46C</i>   |
| Optionnel :  | t(14;16)(q32;q23)2<br>t(14;20)(q32;q12)2<br>t(11;14)(q13;q32)2<br>hyperdiploïdie<br>del(13q)<br>t(8;v)(q24;v) 3 | <i>MAF/IGH</i><br><i>MAFB/IGH</i><br><i>MYEOV-</i><br><i>CCND1/IGH</i><br>chr 3,5,7,9,11,15,19<br><i>RBI, D13S319</i><br><i>MYC</i> |
| En suivi : optionnel   |   |   |
| Obligatoire : FISH* sur plasmocytes triés<br>Optionnel : Caryotype   |   |   |
| Tout marqueur cytogénétique détecté au diagnostic + anomalies plutôt d'apparition secondaire avec valeur Pronostique | del(1)(p32)<br>gain 1q21<br>t(4;14)(p13;q32)<br>t(8;v)(q24;v)<br>del(17p)                                       | <i>CDKN2C, FAF1, FAM46C</i><br><i>CKS1B</i><br><i>FGFR3 et</i><br><i>MMSET/IGH</i><br><i>MYC</i><br><i>TP53</i>                     |

\*d'autres techniques moléculaires peuvent être utilisées. 1 Le panel minimum recommandé évolue en fonction des données de la littérature. 2 ces translocations sont exclusives : l'ordre de recherche du marqueur cytogénétique doit tenir compte de la fréquence de chaque anomalie et du possible changement pronostique qui lui est associé (voir dans le texte : stratégie FISH pour les t(14q32;v)). 3 à rechercher si forme d'emblée agressive, envahissement médullaire massif (**Daudignon A et al, 2016**).

### **g.1. Caryotype**

Il reflète de la prolifération plasmocytaire, le caryotype médullaire permet de mettre en évidence des anomalies chromosomiques clonales dans 30% des myélomes et ce d'autant plus que le stade de la pathologie est avancé. Il peut s'agir d'anomalies chromosomiques de nombre ou de structure (**Nusrat Pathan et al, 2013**).

Le caryotype est effectué à partir d'un prélèvement sérique, médullaire ou ganglionnaire. L'échantillon est mis en culture dans une étuve à CO<sub>2</sub> entre 24 et 72 heures. Les mitoses des cellules sont bloquées en métaphase grâce à un poison du fuseau mitotique comme

la colchicine. Un choc hypotonique entraîne le gonflement des cellules et permet la dispersion des chromosomes. Enfin les cellules sont fixées sur des lames de verre via un mélange de méthanol et d'acide acétique (**Nusrat P et al, 2013**).

Le fixateur provoque la rupture de la membrane cellulaire et l'étalement des chromosomes sur le verre. Après dénaturation, et parfois coloration, il apparaît alors au microscope optique une succession de bandes claires et sombres sur tous les chromosomes : il s'agit de la technique du « banding ». Les chromosomes sont classés selon une nomenclature internationale (taille, index centromérique, bandes chromosomiques) et constituent le caryotype (**Nusrat P et al, 2013**).

### **g.2. Technique d'hybridation in situ en fluorescence de type FISH**

La technique d'hybridation in situ en fluorescence de type FISH repose sur l'utilisation d'une sonde moléculaire constituée d'une petite séquence d'ADN, dont l'emplacement normal est connu dans le génome, et qui est marquée chimiquement de façon à pouvoir être repérée par la suite (**Yaping S, 2000**).

Cette sonde est mise en contact avec les chromosomes en métaphase ou sur des noyaux en interphase et va s'hybrider spécifiquement au niveau de sa séquence complémentaire. On peut alors visualiser la sonde au microscope dont l'emplacement identifie précisément la région chromosomique dont elle est complémentaire. Les sondes sont marquées par une molécule fluorescente qui est directement visible au microscope à fluorescence (**Yaping Shou, 2000**).

### **g. Biologie moléculaire**

Les techniques innovantes de cytogénétique moléculaire pangénomique (CGH-array) et de biologie moléculaire (SNP-array et puces à expression) semblent mieux préciser les groupes pronostiques établis par les classifications actuellement utilisées. Cependant, ces techniques ne sont pas encore du domaine de la routine, nécessitant à la fois une purification des plasmocytes et des plates-formes de bio-informatique dédiées (**Avet-Loiseau H et al, 2011 ; Charles Z, 2015**).

### **h. Cytométrie de flux**

La cytométrie de flux représente une étape essentielle dans le diagnostic et le suivi de la plupart des hémopathies malignes.

La CMF est donc devenue un outil de choix qui permet d'analyser le phénotype des cellules afin de sonder le système hématopoïétique/immunitaire. De plus, outre la détection de marqueurs de surface.

Les cytomètres de flux actuellement disponibles permettent l'obtention de résultats rapides et fiables, avec d'une part des paramètres de taille et de structure des cellules, et d'autre part des paramètres de fluorescence spécifiques grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux couplés à des fluorochromes (**Lise M, 2010**).

### **h.1. Marqueurs de repérage**

L'identification précise des cellules myélomateuses par CMF est cruciale pour la détermination des caractéristiques phénotypiques particulières du MM.

La double expression du CD38 et du CD138 permet d'affirmer la nature plasmocytaire d'une cellule médullaire, sans préjuger du caractère malin. Les plasmocytes tumoraux sont traditionnellement identifiés par le profil CD38+++ / CD45 faible, ce qui ne permet pas d'identifier les MM composés pour tout ou partie de plasmocytes CD45+. Finalement, c'est la combinaison des trois marqueurs CD38/CD138/CD45 qui est reconnue comme étant la plus efficace pour l'identification des cellules plasmocytaires malignes, en effet, cette « triple identification » permet :

D'éviter la contamination par des éléments CD38+ non plasmocytaires (ils seront CD138-);

De détecter les éléments CD38- ou faible (de rares cas de négativité du CD38 ont été rapportés dans le MM) ;

De prendre en compte les éléments dont la densité antigénique de CD138 est faible, à savoir les cellules plasmocytaires apoptotiques (Bataille et al, 2006) ou très immatures ;

De discriminer les plasmocytes malins des plasmocytes physiologiques par l'expression de CD45 (**Lise M, 2010**).

### **h.2. Marqueurs de malignité**

Une fois les cellules plasmocytaires identifiées, il convient de déterminer leur profil phénotypique afin de mettre en évidence leur caractère malin, d'identifier des caractéristiques phénotypiques particulières (à la base de l'utilisation de l'immunophénotypage dans le suivi de la maladie) et d'obtenir des éléments pronostiques.

L'EMN a publié un consensus quant aux marqueurs phénotypiques à tester dans le MM. Il propose, outre les antigènes « d'identification » CD38/CD138/CD45 (Tableau N°3) :

Un panel minimum comprenant les marqueurs de malignité CD19 et CD56 ; cette combinaison serait capable de mettre en évidence la malignité des plasmocytes dans plus de 90% des cas ;

Un panel de base correspondant au panel minimum auquel il convient d'ajouter CD20, CD27, CD28 et CD117, afin d'obtenir une combinaison optimale permettant d'identifier et de caractériser les plasmocytes malins (Lise M, 2010).

**Tableau N°3 : Immunophénotypage plasmocytaire dans le myélome multiple : marqueurs d'intérêt, profils d'expression et valeur pronostique (Lise M, 2010).**

|       | Profils d'expression                |                    | Cas de MM présentant un profil aberrant | Valeur pronostique | Utilisation pour l'immunophénotypage dans le MM |           |
|-------|-------------------------------------|--------------------|---|--------------------|---|-----------|
|       | normal (physiologique/ réactionnel) | aberrant (tumoral) |   |                    |   |           |
| CD38  | +++                                 | ++                 |   |                    | indispensable                                   |           |
| CD138 | +++                                 | +++                |   |                    | indispensable                                   | REPERAGE  |
| CD45  | +                                   | -                  | > 90%                                   | défavorable        | indispensable                                   |           |
| CD19  | +                                   | -                  | > 95%                                   | CD19+ favorable    | essentielle                                     | MALIGNITE |
| CD56  | -                                   | +                  | 60-70%                                  | CD56- défavorable  | essentielle                                     |           |
| CD20  | -                                   | +                  | ~ 20%                                   | favorable          | recommandée                                     |           |
| CD27  | +                                   | -                  | 40-50%                                  | défavorable        | recommandée                                     |           |
| CD28  | -                                   | +                  | 15-45%                                  | défavorable        | recommandée                                     |           |
| CD33  | -                                   | +                  | ~ 20%                                   | défavorable        | ?   | MALIGNITE |
| CD117 | -                                   | +                  | ~ 30%                                   | favorable          | recommandée                                     |           |
| CD221 | faible                              | +                  | ~ 75%                                   | défavorable        | ?   |           |

## II.7. Diagnostic

Le MM peut être découvert dans un contexte hématologique (syndrome anémique), syndrome rhumatologique (signe osseux) ou néphrologique (découverte d'une insuffisance rénale), ce qui rend sa prise en charge multidisciplinaire. La découverte peut aussi être fortuite, devant la découverte systématique d'une VS très élevée ou un pic à l'EPS.

### II.7.1 Critère de diagnostic

Les critères de diagnostic du myélome multiple en été actualisés en 2003 par « International Myeloma Working Group » ce qui a permis une simplification et beaucoup plus de clarté dans ce domaine.

Pour poser le diagnostic de myélome multiple, il est nécessaire et suffisant d'objectiver une infiltration médullaire plasmocytaire monoclonale  $\geq 10\%$  et/ou une para-protéine sérique  $\geq 30$  g/l (Anne C, Michel A, 2013).

Par la suite, l'essentiel du diagnostic consiste à déterminer s'il s'agit d'un MM symptomatique ou asymptomatique. Est considéré comme MM symptomatique, un myélome présentant une atteinte d'organe cible abrégé selon l'acronyme « CRAB » (calcium, insufficiency, anemia or bonelesions).

Les critères d'atteintes des systèmes précités sont précisés dans le tableau N°4. D'autres atteintes « d'organe cible », plus rare, constituent également un critère de diagnostic de myélome symptomatique :

- Des infections bactériennes récurrentes (> 2 épisodes en 12 mois)
- Un syndrome d'hyperviscosité
- Une infiltration plasmocytaire peut être associée à une amyloïdose primaire (AL), ce qui constitue également un critère de traitement. Dans ce cas, le terme de MM associé est souvent abandonné.

Le MM est caractérisé au moment du diagnostic par un stade tumoral. Le stade ISS (International Staging System) est universellement utilisé depuis 2005 et permet de stratifier simplement le pronostic de survie des patients (tableau N5°).

La classification selon ISS détermine 3 stades en tenant compte de deux variables, l'albumine et  $\beta$ -2-microglobuline, et est illustrée dans le tableau N°6. La classification anciennement utilisée selon Durie et Salmon décrite en 1975 reste souvent utilisée en parallèle car elle donne une bonne évaluation de l'étendue de la maladie (Anne C, Michel A, 2013).

**Tableau N°4 : Critères d'atteintes des systèmes CRAB (Anne C, Michel A, 2013).**

|       |  |
|-------|--|
| C     | Calcium : taux sérique > 0,25 mmol/l de la limite supérieure de l'intervalle de référence ou > 2,75 mmol/l |
| R     | Insuffisance rénale : créatinine supérieure > 177 $\mu$ mol/l  |
| A     | Anémie : hémoglobine < 100 g/l ou 20g/l en dessous de la limite inférieure de l'intervalle de référence    |
| B     | Bone lésions : lésions osseuses lytiques ou ostéoporose avec fractures et compression                      |
| Autre | Infection bactérienne récurrentes (> 2 épisodes en 12 mois), amyloïdose, hyperviscosité symptomatique      |

**Tableau N°5 : Classification ISS (International Staging System) (Anne C, Michel A, 2013).**

| Stade    | Taux d'albumine        | Taux $\beta$ -2-microglobuline            | Survie médiane |
|----------|------------------------|---|----------------|
| Stade I  | Albumine $\geq$ 35 g/l | $\beta$ -2-microglobuline $\leq$ 3,5 mg/l | 62 mois        |
| Stade II | Albumine $\geq$ 35 g/l | $\beta$ -2-microglobuline $\leq$ 3.5 mg/l | 44 mois        |

|              |                                 |  |            |
|--------------|---------------------------------|--|------------|
|              | ou<br>Albumine $\geq$<br>35 g/l | ou<br>$\beta$ -2-microglobuline $\leq$ 3,5-<br>5,5mg/l |            |
| Stade<br>III |                                 | $\beta$ -2-microglobuline $\leq$ 5,5<br>mg/l           | 29<br>mois |

**Tableau N°6 : Stade selon Durie et Salmon (Anne C, Michel A, 2013).**

|              |  |
|--------------|--|
| <b>Stade</b> |  |
| Stade<br>I   | Absence d'anémie significative (Hb $\geq$ 100g/l)<br>Absence d'hypercalcémie (Ca <sup>++</sup> $\leq$ 3 mmol/l)<br>Radiographies normales ou ne montrant qu'un plasmocytome<br>unique<br>M-protéine : IgA $\leq$ 30 g/l, IgM $\leq$ 50 g/l, Bences-Jones $\leq$ 4<br>g/24h |
| Stade<br>II  | Stade intermédiaire entre I et II  |
| Stade<br>III | Anémie $\leq$ 85 g/l<br>Hypercalcémie $\geq$ 3 mmol/l<br>Radiographies montrant de multiples lésions lytiques osseuses<br>M-protéine : IgA $\leq$ 50 g/l, IgM $\leq$ 70 g/l, Bences-Jones $\leq$ 12<br>g/24h   |

#### **a. Diagnostic différentielle**

Le diagnostic de MM est en règle facile, il repose sur l'analyse de la triade : plasmocytose médullaire, pic monoclonal et la présence des manifestations clinico-biologiques qui sont regroupées sous le terme CRAB (hyper-Calcémie, Renalinsufficiency, Anemia and Bonelesions) (Arnulf B, 2013).

#### **b.1 Gamapathie monoclonal de signification indéterminée (MGUS)**

La gammapathie monoclonale de signification indéterminée est considérée comme un état pré-myélomateux. On ne trouve pas encore les critères CRAB. En effet, le patient ne présente aucun symptôme clinique et aucune anomalie biologique n'est retrouvée sur l'hémogramme et l'analyse biochimique (créatininémie, calcémie). Le taux sérique de l'immunoglobuline monoclonale reste  $< 30$ g/L et la plasmocytose médullaire est  $< 10\%$  (Arnulf B, 2013).

L'état général de la personne atteinte n'est, généralement, pas affecté. On considère que lorsqu'une personne est atteinte de MGUS, le risque d'évolution de la maladie en myélome multiple est d'environ 1% par an.

Aucun traitement n'est mis en place lors de cet état pré-cancéreux (**Arnulf B, 2013**).

### **b.2. Gammopathie monoclonale associée ou secondaire**

Une gammopathie monoclonale peut être révélatrice de pathologies très différentes d'un myélome multiple. En effet, celle-ci peut être le résultat d'infections, de maladies auto-immunes, d'hépatopathies chroniques ou de déficits immunitaires.

La plupart des infections virales (EBV, CMV, VHC, VIH), bactériennes (endocardite, ostéomyélite, tuberculose) ou parasitaires (leishmaniose, paludisme, toxoplasmose) peuvent être associées à une gammopathie monoclonale importante. Les infections aiguës provoquent également, de façon temporaire, l'apparition d'une gammopathie monoclonale.

Les maladies auto-immunes telles que la polyarthrite rhumatoïde, le syndrome de Goujerot-Sjögren, le lupus érythémateux aigu disséminé (LEAD) peuvent, de la même manière, provoquer une gammopathie monoclonale.

Toutes les hépatopathies chroniques, quelle qu'en soit l'étiologie (toxique, médicamenteuse, virale ou auto-immune) peuvent être associées à une gammopathie monoclonale.

Un déficit immunitaire, comme le déficit immunitaire commun variable (DCIV), peut être paradoxalement responsable de l'apparition d'une gammopathie monoclonale (**Zosia C, 2015**).

### **b.3 Maladie de Waldenström**

La maladie de Waldenström est une hémopathie maligne d'évolution lente touchant principalement les sujets âgés et qui reste longtemps asymptomatique.

Elle est responsable de la prolifération anormale des lymphocytes de type B et des cellules à caractère plasmocytaire au niveau de la moelle osseuse.

Ces cellules tumorales sécrètent en quantité élevée une immunoglobuline monoclonale souvent de type IgM. L'immunoglobuline provoque une hyperviscosité sanguine de par son haut poids moléculaire et est responsable de nombreux signes cliniques et biologiques (Tableau N°7) (**Zosia C, 2015**).

**Tableau N° 7 : Récapitulatif des signes cliniques et biologiques observés au cours de la maladie de Waldenström (Zosia Chustecka, 2015).**

|                         | <b>Signes cliniques</b>   | <b>Signes biologiques</b>  |
|-------------------------|---|--|
| <b>Caractéristiques</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>-adénopathies et/ou splénomégalie,</li> <li>- asthénie, pâleur, essoufflement,</li> <li>- troubles hémorragiques (épistaxis, gingivorragie...),</li> <li>- signes neurosensoriels dus à l'hyperviscosité sanguine telle que des céphalées, des vertiges, des acouphènes, des troubles visuels,</li> <li>- prurit à l'eau,</li> <li>- neuropathie périphérique,</li> <li>- syndrome de Raynaud et/ou acrosyndrome.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>-anémie normocytaire arégénérative avec des hématies en rouleaux et VS augmentée,</li> <li>- hyperleucocytose ou neutropénie,</li> <li>- infiltration lympho-plasmocytaire <math>\geq 10\%</math> au niveau médullaire,</li> <li>- présence d'une immunoglobuline monoclonale à IgM sur l'EPS (75% des cas),</li> <li>- hyperprotidémie et protéinurie de Bence-Jones,</li> <li>- calcémie normale</li> </ul> |

#### **b.4 Maladie des chaînes lourdes alpha**

La maladie des chaînes lourdes(MCL) alpha est une pathologie immuno-proliférative rare touchant essentiellement les populations jeunes du pourtour méditerranéen. Celle-ci se manifeste par une infiltration plasmocytaire massive au niveau de la muqueuse digestive, plus particulièrement au niveau de l'intestin grêle.

La particularité de la MCL alpha réside dans le fait que les plasmocytes sécrètent des chaînes lourdes alpha incomplètes, et est dépourvue de chaînes légères.

Les signes cliniques se caractérisent par un syndrome de mal absorption accompagné de diarrhées chroniques, de douleurs abdominales et d'une perte de poids importante. Des infections parasitaires chroniques pourraient expliquer l'afflux anormal de cellules plasmocytaires au niveau jéjunal (**Robert K, Dietlind W, 2011**).

La prise en charge initiale repose sur le traitement des infections parasitaires récurrentes puis sur l'utilisation d'une chimiothérapie si nécessaire. L'évolution de la maladie est variable

avec la possibilité d'une évolution défavorable en lymphome immuno-blastique (**Robert K, Dietlind W, 2011**).

### **II.7.2 Diagnostic différentiel des lésions osseuses**

Les géodes osseuses ne doivent pas écarter le diagnostic d'une tumeur osseuse primitive (bénigne ou maligne) ou d'un cancer secondaire des os.

De la même manière, l'ostéoporose se manifeste chez les patients par une déminéralisation diffuse et peut être confondue avec les lésions du myélome obtenues sur les clichés radiographiques.

Dans tous les cas, des examens complémentaires biologiques, cliniques et d'imagerie doivent être pratiqués pour obtenir le bon diagnostic (**Robert K, Dietlind W, 2011**).

### **II.8. Formes cliniques**

#### **a. Myélome asymptomatique**

Le myélome multiple asymptomatique aussi appelé myélome indolent puisqu'il n'engendre pas de signes cliniques ou biologiques. Ce type de myélome se situe entre la gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS, un état précancéreux) et le myélome multiple actif (symptomatique), il représente 10 à 15% des myélomes (**Manier S, Leuleu X, 2011**) et se caractérise par :

- Un pic monoclonal supérieur à 30 g/L,
- Une plasmocytose médullaire supérieure à 10%,
- L'absence de critères CRAB chez le malade.

En moyenne, les patients présentant un myélome asymptomatique ont un risque annuel de progression en myélome déclaré de 1 0% (**Jo C, Yves B , 2014**).

L'IMWG recommande pour ces patients à risque un suivi tous les 3 à 6 mois pendant un an puis tous les 6 mois à un an en cas de stabilité. Pour vérifier si la maladie évolue vers un myélome multiple actif (**Charlot-Lambrecht I et al, 2011**).

#### **b. Myélome multiple symptomatique**

Le deuxième stade lorsque le myélome a évolué, il peut provoquer des signes cliniques et/ ou biologiques qui font suspecter sa présence et sont donc le « point de départ » d'un bilan diagnostique. Il peut notamment s'agir d'une ou plusieurs des anomalies suivantes :

- Un pic monoclonal supérieur à 30 g/L,
- Une plasmocytose médullaire supérieure à 10%,
- La présence d'au moins un des critères CRAB chez le malade (**Manier S, Leuleu X, 2011**).

### c. Plasmocytome solitaire

Le plasmocytome solitaire est une forme rare de tumeur, C'est une prolifération plasmocytaire unique osseuse ou extra-osseuse (tractus aerodigestif) avec ou sans immunoglobuline monoclonale circulante, sans plasmocytose médullaire (**Manier S, Leuleu X, 2011**).

Le plasmocytome solitaire osseux est habituellement découvert à l'occasion de douleurs osseuses, d'une fracture pathologique ou d'une compression médullaire. La distinction avec le myélome multiple est parfois difficile nécessitant différents critères, en particulier la normalité des résultats du myélogramme et de la biopsie ostéomédullaire, et surtout le caractère unique de cette tumeur est difficile à affirmer sur les examens morphologiques (J. Paccou et al, 2005).

Le diagnostic est fait sur la biopsie. Le traitement par radiothérapies locale suffit. L'évolution vers un myélome est possible (**Manier S, Leuleu X, 2011**).

### d. Leucémie à plasmocytes

La leucémie à plasmocytes (LCP) est une affection rare qui survient de novo (leucémie à plasmocytes primitive ou LCP-P) ou dans l'évolution d'un myélome multiple (MM) (leucémie à plasmocytes secondaire ou LCP-S) (**Romain G et al, 2005**).

Son diagnostic repose sur une plasmocytose sanguine supérieure à  $2 \times 10^9/L$  ou supérieure à 20 % de la formule sanguine. Néanmoins, il peut être retenu chez les patients présentant une plasmocytose plus modérée car ces derniers partagent les mêmes caractéristiques, en particulier pronostiques, que les patients atteints d'authentiques LCP. Par rapport au MM, la LCP est plus fréquemment responsable de localisations extramédullaires, d'anémies, de thrombopénies, d'hypercalcémies, d'insuffisances rénales et de taux sériques plus élevés de LDH et de  $\beta_2$ -microglobuline (**Romain G et al, 2005**).

Elle comporte également des particularités biologiques liées à la malignité intrinsèque de la maladie : fréquence des anomalies cytogénétiques défavorables (hypodiploïdie, délétion du chromosome 13), faible ADN index et phénotype plus immature. Ces caractéristiques permettent d'expliquer le caractère souvent chimiorésistant et le plus mauvais pronostic de la LCP par rapport au MM (**Romain G et al, 2005**).

### e. Myélome ostéocondensant

Le myélome ostéocondensant (syndrome POEMS) est un trouble rare qui affecte de multiples systèmes et appareils du corps.

Il s'agit d'un acronyme correspondant à l'association d'une :

- Poly-neuropathie périphérique sensitivomotrice ;

- Organomégalie (hépatosplénomégalie) ;
- Endocrinopathie (diabète, insuffisance surrénalienne) ;
- Gammopathie Monoclonale (Monoclonal Gammopathy) : il peut s'agir d'une MGUS (gammopathie monoclonale de signification indéterminée), d'un plasmocytome, d'un myélome multiple ;
- atteinte cutanée (Skin Disease) : dépilation, hyperpigmentation, œdèmes importants, parfois tableau d'anasarque.

Il survient surtout chez l'homme vers cinquante ans. La moyenne de survie est de 165 mois. Le plus souvent, s'y associe une lésion osseuse unique ou multiple, condensante (**Manier S, Leuleu X, 2011**).

#### f. Myélomes à isotype d'immunoglobuline rare

C'est une complication fréquente des myélomes de forte masse tumorale, il se caractérise par :

- Excrétion urinaire abondante de chaîne légère monoclonale ;
- IgD (2% des cas), à IgM ou IgE ;
- On excrétants (2% des cas) ou biclonaux.

Il peut arriver, dans certains cas où la température est inférieure à 37°C, que l'immunoglobuline monoclonale précipite ou forme un gel (Figure N°16). Cela correspond :

- À une cryoglobuline de type I si l'immunoglobuline monoclonale est isolée,
- À une cryoglobuline de type II si l'immunoglobuline monoclonale est non isolée (**Bordessoule D, 2013**).



**Figure N°16 : Cryosyndrome se manifestant au niveau des extrémités des membres après exposition au froid (D. Bordessoule, 2013).**

Les symptômes peuvent se manifester, dans les cas extrêmes, par la nécrose des extrémités ou des manifestations de vascularite (purpura vasculaire, glomérulonéphrite). Un

traitement peut être mis en place même si le myélome est caractérisé comme asymptomatique (**Arnulf B, 2013**).

## **II.9. Critères pronostiques**

La durée médiane de survie globale pour le MM est de 3 à 4 ans. Néanmoins, l'évolution de la maladie est très variable d'un patient à l'autre, avec une survie allant de moins de 6 mois à plus de 10 ans. Cette variabilité est due à l'hétérogénéité de la pathologie, de la biologie des cellules myélomateuses ainsi qu'aux multiples facteurs associés à l'hôte. La connaissance des facteurs pronostiques liés à la tumeur et au patient est indispensable pour prédire l'évolution de la maladie, identifier les patients à risque et optimiser la prise en charge.

### **a. Facteurs pronostiques individuels**

Les facteurs affectant le pronostic du MM sont liés à l'hôte (un âge élevé et un indice de performance supérieur à 2 sont de mauvais pronostic) et à la maladie elle-même (masse tumorale, propriétés intrinsèques des cellules myélomateuses).

- **Importance de la masse tumorale**

Une calcémie élevée, des lésions osseuses lytiques étendues, une plasmocytose médullaire importante sont corrélés avec un mauvais pronostic.

La  $\beta 2m$  sérique, paramètre facilement disponible et reproductible, s'est révélée être, depuis son introduction il y a 25 ans, un important facteur pronostique au diagnostic de la maladie.

La  $\beta 2m$  est exprimée à la surface des plasmocytes malins et est relarguée dans le sérum par clivage protéolytique. Ainsi, plus la masse tumorale augmente, plus le taux de  $\beta 2m$  sérique est élevé.

Enfin, beaucoup plus récemment, il a été montré que le dosage des CLL sériques avait une valeur pronostique majeure dans quasiment toutes les pathologies plasmocytaires, dont la MGUS, le SMM et le MM (**Snozek et al, 2008**).

En outre, la mise en évidence d'anomalies moléculaires comme les mutations de ras est associée à une forte masse tumorale et constitue un facteur pronostique péjoratif.

- **Malignité intrinsèque**

Une CRP élevée (reflet de l'IL-6 endogène), une albuminémie basse ou des LDH élevées sont associées à un mauvais pronostic dans le MM.

Le type d'Ig monoclonale a également un impact sur l'évolution de la maladie. Il semblerait que certains sous-types de MM soient de plus mauvais pronostic : MM à IgD, IgA ou à chaînes légères ( $\lambda$  plutôt que  $\kappa$ ).

En ce qui concerne la morphologie des cellules myélomateuses, aucune valeur pronostique n'a pu être attribuée aux modifications cytoplasmiques (**Gardais et al, 2001**).

En revanche, plusieurs études ont montré que les modifications nucléaires observées au myélogramme (anisocytose avec noyau de grande taille, présence de nucléole, chromatine immature) sont liées au pronostic de la maladie (**Goasgen et al, 1999 ; Greipp et al, 1998 ; Leleu et al, 2005**).

Sur le plan cytogénétique, la ploïdie a un impact significatif sur le pronostic : l'hyperdiploïdie est favorable et à l'inverse l'hypodiploïdie est un facteur défavorable (Fonseca et al, 2004). L'impact pronostique des translocations IgH (locus 14q32) sur la survie est discuté et hétérogène. Les translocations t(4;14) et t(14;16) sont associées avec un mauvais pronostic alors que t(11;14) serait corrélée à une meilleure survie (**Fonseca et al, 2004**). Les trois anomalies cytogénétiques couramment recherchées dans le MM, del13, t(4;14) et del17p, sont des éléments de mauvais pronostic (**Avet-Loiseau et al, 2007 ; Fonseca et al, 2004**).

La chimiosensibilité de la tumeur constitue également un indicateur pronostique.

Ainsi, depuis les années 1960, de nombreuses études ont identifié divers paramètres cliniques et biologiques qui prédisent de façon indépendante la durée de survie dans le MM. Le dosage de la  $\beta$ 2m sérique est sans doute l'un des paramètres pronostiques les plus importants dans le MM. Néanmoins, il ne reflète pas l'ensemble des caractéristiques de la maladie, mais essentiellement la masse tumorale et les répercussions rénales.

Des combinaisons des différents facteurs pronostiques ont été suggérées, afin d'établir des systèmes simples et reproductibles permettant de classer les patients atteints de MM en fonction de leur pronostic.

## **b. Classification pronostic**

### **b.1 Classification de Durie et Salmon**

La classification historique de Durie et Salmon a été publiée en 1975 (**Durie BG et Salmon SE, 1975**). Elle permet de refléter l'importance de la masse tumorale dans le MM et repose sur des critères cliniques et biologiques simples tel que le pourcentage d'infiltration médullaire par les plasmocytes, la présence d'une immunoglobuline monoclonale dans le sérum ou des chaînes légères de l'immunoglobuline urinaire, le taux d'hémoglobine, la calcémie, l'atteinte rénale du patient et enfin le nombre de lésions osseuses ostéolytiques traditionnellement défini par la radiographie du squelette.

Les patients sont ainsi classés en trois catégories selon l'importance de la masse tumorale, et de la fonction rénale qui définit des sous-groupes (Tableau N°9).

Une mise à jour de cette classification a été proposée en 2005 par l'INTERNATIONAL MYELOMA FOUNDATION. Elle se nomme SALMON DURIE et PLUS. En plus des critères classiques, cette classification propose d'utiliser les techniques d'imagerie moderne telles que le scanner, la TEP/CT au [18F]-FDG ou l'IRM de la colonne vertébrale pour apprécier les lésions osseuses.

**Tableau N° 8 : Classification de Durie et Salmon (Durie BG et Salmon SE, 1975).**

| Stade   | Critères  | Masse tumorale ( $\times 10^{12}/m^2$ ) |
|---|---|---|
| I   | Tous ces critères sont présents : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Hémoglobine &gt; 10g/dl</li> <li>▪ Calcémie normale <math>\leq 120</math> mg/l</li> <li>▪ Os normal ou plasmocytome isolé</li> <li>▪ Taux d'Ig monoclonale faible : IgG &lt; 50 g/L, IgA &lt; 30 g/L, Ig monoclonale urinaire &lt; 4 g/24 h</li> </ul>   | < 0,6 (faible)                          |
| II  | Aucun des critères du stade III ni du stade I   | 0,6-1,2 (intermédiaire)                 |
| III   | L'un au moins des critères suivants : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Hémoglobine &lt; 8,5 g/dl</li> <li>▪ Calcémie &gt; 120 mg/l</li> <li>▪ Multiples lésions lytiques (lésions destructrices ou fractures pathologiques)</li> <li>▪ Taux élevé d'Ig monoclonale : IgG &gt; 70 g/l, IgA &gt; 50 g/l, Ig monoclonale urinaire <math>\geq 12</math> g/24 h</li> </ul> | > 1,2 (élevée)                          |
| Sous-classification :<br>A - Fonction rénale normale (créatininémie < 20 mg/L).<br>B - Fonction rénale anormale (créatininémie $\geq 20$ mg/L). |   |   |

Cette classification reste d'actualité mais il ne faut pas ignorer que sa valeur pronostique est finalement inférieure à celle de la  $\beta 2m$  et des anomalies cytogénétiques.

### **b.2 International Staging System (ISS)**

ISS est un indice pronostique international basé sur la combinaison de deux paramètres biologiques prédictifs de la durée de survie, facilement disponibles et

évaluables de façon simple et reproductible : la  $\beta 2m$  sérique et l'albuminémie. Il en résulte une classification en trois stades. ( **Greipp RP et al, 2005**) (Tableau N° 9)

**Tableau N°9 : International Staging System (ISS)**

| Stade | Critère   | Survie médiane |
|-------|---|----------------|
| I     | $\beta 2m < 3,5$ mg/l et albumine $\geq 35$ g/l | 62 mois        |
| II    | Ni stade I ni stade III                         | 44 mois        |
| III   | $\beta 2m \geq 5,5$ mg/L                        | 29 mois        |

### **b.3 Classifications cytogénétiques et moléculaires**

Depuis déjà plusieurs années, les anomalies cytogénétiques ont montré qu'elles jouaient un rôle important dans l'évolution de certaines hémopathies malignes et avaient même parfois un impact dans le choix du traitement de celles-ci.

C'est notamment le cas pour les leucémies aiguës et les myélodysplasies. Pour ce qui est du MM, la mise en évidence de la valeur pronostique de certaines anomalies cytogénétiques est beaucoup plus récente. A l'heure actuelle, la connaissance de la présence de ces anomalies nous permet d'avoir une indication sur l'évolution future de la maladie mais n'a à ce jour toujours aucun poids sur le choix du traitement (**Avet-Loiseau. H, 2007**).

Une première classification génétique, basée sur la ploïdie, identifie grossièrement une catégorie de patients avec un pronostic favorable (hyperdiploïdes) et une catégorie de patients avec un pronostic défavorable (non hyperdiploïdes) (**Fonseca R et al, 2004 ; Wulleme S et al, 2005**).

De plus, on peut retrouver des anomalies structurales sous forme de translocations concernant de nombreux chromosomes et de nombreux locus sur le bras court ou long d'un chromosome, les plus remarquables font intervenir le chromosome 14, et plus particulièrement le locus 14q32 des chaînes lourdes des Ig (IgH) (**Fonseca R et al, 2004 ; Wulleme S et al, 2005**).

## **II.10. Traitement**

La prise en charge du patient ayant un myélome est complexe et doit être pluridisciplinaire. Les traitements seront décidés en tenant compte du caractère symptomatique ou non de celui-ci, de l'âge et de l'état générale de santé, le type de myélome et les anomalies génétiques détectées dans les cellules myélomateuses (**Riccardi et al ; 2000**).

### II.10.1 Historique de traitement du myélome multiple

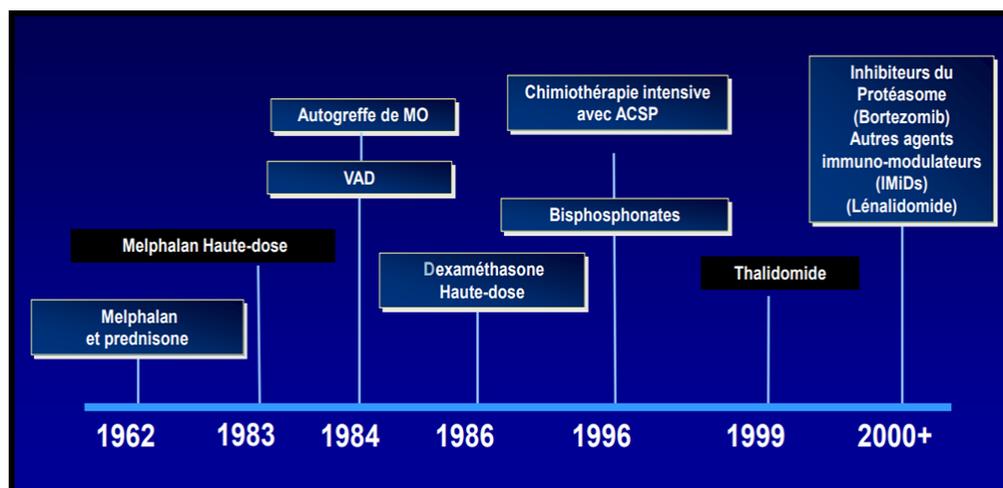


Figure N°17 : Historique de traitement (Thierry F, 2017).

### II.10.2 Objectif du traitement

L'objectif du traitement est d'obtenir le contrôle de la maladie le plus profond et le plus durable possible ; en effet, malgré les progrès majeurs dans la prise en charge du myélome, cette hémopathie reste incurable et devient progressivement résistante à tous les traitements existants (Fouquet G et al, 2017).

### II.10.3 Principe de traitement

Les patients totalement asymptomatiques, avec un myélome de stade 1 ne sont pas traités. Une surveillance tous les 3 mois de leur bilan biologique et tous les 6 à 12 mois de leur radio du squelette permettra de déterminer le moment de commencer un traitement par chimiothérapie.

La prise en charge du myélome multiple peut se diviser en :

- Traitement des conséquences du myélome sur les différents tissus et organes
- Traitement du myélome lui-même.

Ces deux traitements sont, le plus souvent, associés. Les premiers permettent d'améliorer et de maintenir au mieux la qualité de vie ; les deuxièmes visent à contrôler la

prolifération des plasmocytes tumoraux, et donc prolonger l'espérance de vie (**Anne C, Michel AD, 2013**).

#### II.10.4 Choix du traitement

Le choix du traitement sera discuté en tenant compte de l'âge physiologique et des facteurs pronostiques du MM. Schématiquement :

- avant 55 ans : allogreffe ;
- entre 50 et 65 ans : une autogreffe ou une mini-autogreffe avec recueil de cellules souches est à discuter ;
- après 65 ans :
  - une mini-autogreffe si l'état général est bon,
  - melphalan-prednisone (**Fouquet G et al, 2017**).

#### II.10.5 Critère de réponse

##### a. Critères de réponse selon l'EBMT

**Tableau N°10 : Critères de réponse selon l'EBMT (Bladé J et al, 1998)**

| Catégorie de réponse                                  | Critères  |
|---|---|
| <b>RC (présence de tous les critères)</b>             | Disparition de l'IgM sérique et urinaire (immunofixation) confirmée à 6 semaines.<br>Plasmocytose médullaire < 5% au myélogramme (ou BOM).<br>Stabilité des lésions lytiques en nombre et en taille.<br>Disparition des plasmocytomes extra-médullaires.  |
| <b>RP (présence de tous les critères)</b>             | Réduction de l'Ig monoclonale $\geq 50\%$ , confirmée à 6 semaines.<br>Réduction de la PBJ $\geq 90\%$ ou $< 200\text{mg}/24\text{h}$ confirmée à 6 semaines.<br>Pour les MMNS: diminution de la plasmocytose médullaire $\geq 50\%$ , confirmée à 6 semaines.<br>Réduction de $\geq 50\%$ des plasmocytomes extramédullaires.<br>Absence de l'augmentation en taille ou en nombre des lésions ostéolytiques. |
| <b>Réponse minime (présence de tous les critères)</b> | Réduction de l'IgM de 25 à 49% confirmée à 6 semaines.<br>Réduction de la PBJ de 50 à 89% ou $> 200\text{ mg}$ confirmée à 6 semaines.<br>Pour les MMNS diminution de la plasmocytose médullaire de 25 à 49% confirmée à 6 semaines.<br>Réduction de 25 à 49% de la plasmocytose extra médullaire.<br>Absence de l'augmentation en taille et en nombre des lésions ostéolytiques.                             |
| <b>Stabilité</b>                                      | Absence des critères de réponse minime ou de RP   |

|   |   |
|---|---|
| <b>Plateau</b>  | Valeur du pic $\pm 25\%$ par rapport à la date d'évaluation de la réponse confirmée à 3 mois  |
| <b>Rechute (un des critères suivants)</b>   | Réapparition de l'IgM sérique ou urinaire à l'immunofixation et à l'électrophorèse, confirmée une fois.<br>Plasmocytose $\geq 5\%$ .<br>Apparition de nouvelles lésions ostéolytiques ou plasmocytomes ou augmentation de leur taille.<br>Hypercalcémie $> 115$ mg/l (2,8mmol/l) sans autre cause.  |
| <b>Maladie progressive (Pour les patients non en RC : un des critères suivants)</b> | Augmentation de l'IgM sérique $>25\%$ , avec augmentation absolue d'au moins 5g/l, confirmée.<br>Augmentation de la PBJ $> 25\%$ avec valeur absolue d'au moins 200mg confirmée.<br>Augmentation $>25\%$ de la plasmocytose médullaire avec augmentation absolue d'au moins 10%.<br>Augmentation du nombre ou de la taille des lésions ostéolytiques ou des plasmocytomes, ou apparition de nouvelles lésions et une hypercalcémie $> 115$ mg/l, sans autre cause |

#### b. Critères de réponse selon l'IMWG

**Tableau N°11 : Critères de réponse au traitement selon IMWG (Durie BGM et al, 2006)**

| Catégorie de réponse        | Critère de réponse (tous)  |
|-----------------------------|--|
| <b>RC stringente</b>        | RC + rapport $\kappa/\lambda$ normal et absence de cellules clonales médullaires en immunofixation ou immunohistochimie  |
| <b>RC</b>                   | Immunofixation sérique et urinaire négative -Plasmocytose médullaire $\leq 5\%$ -<br>Disparition des plasmocytomes   |
| <b>TBRP</b>                 | IgM non détectée à l'électrophorèse ou -Diminution $\geq 90\%$ de l'Ig sérique et PBJ $< 100$ mg/24 h  |
| <b>RP</b>                   | Diminution de l'IgM sérique $\geq 50\%$ et diminution de la PBJ $\geq 50\%$ ou $< 200$ mg/24h -Si Ig non mesurable : baisse d'au moins 50% de la différence entre la CL atteinte et celle non atteinte -Si chaînes légères libres non mesurables : diminution d'au moins 50% de la plasmocytose médullaire (si valeur initiale $\geq 30\%$ ) -Diminution d'au moins 50% de la taille des plasmocytomes initialement présents |
| <b>Maladie stable</b>       | Absence de critère de RC, TBRP, RP ou progression  |
| <b>Catégorie de rechute</b> | Critères de rechute : 1 ou plus  |

|  |  |
|--|--|
| <b>Maladie progressive (calcul DDP et SSP)</b> | Augmentation d'au moins 25% par rapport au taux initial pour :<br>Ig monoclonale (augmentation d'au moins 5g/l)<br>PBJ (augmentation d'au moins 200mg/24h)<br>Différence entre la chaîne légère atteinte et non atteinte<br>Plasmocytose médullaire (au moins 10%)<br>Apparition d'une hypercalcémie (>115mg/l ou 2,65mmol/l) Apparition de nouvelles lésions osseuses ou de plasmocytomes |
| <b>Rechute clinique</b>                        | Apparition d'un ou plusieurs éléments du CRAB  |
| <b>Rechute après RC</b>                        | -Réapparition de l'Igm en immunofixation ou électrophorèse, plasmocytose médullaire. Plasmocytose médullaire $\geq$ 5% -Hypercalcémie nouvelle lésion ostéolytique ou plasmocytome   |

### II.10.6 Substance utilisées

#### a. Agent alkylants et corticostéroïdes

Le melphalan reste une molécule essentielle dans la prise en charge du MM que ce soit à dose intensive chez le sujet jeune ou à faible doses et en association chez le sujet âgé. Les corticostéroïdes sont partie intégrante de tous les traitements dans le MM, le plus souvent sous forme de Dexaméthasone ou chez les patients âgés de Prednisone. Le cyclophosphamide est également utilisé en association en traitement d'induction ou en progression (**Anne C, Michel AD, 2013**).

#### b. Inhibiteurs de protéasomes

Le bortezomib et le carfilzomib. L'inhibition du protéasome conduit à une accumulation intracellulaire de protéines résistantes à la dégradation, à une inhibition du facteur transcriptionnel NF- $\kappa$ B et à un arrêt du cycle cellulaire puis à l'apoptose des cellules myélomateuses (**Anne C, Michel AD, 2013**).

#### c. Bisphosphonates

Les bisphosphonates réduisent les complications osseuses dans le MM et diminuent en particulier les fractures vertébrales. Un effet antitumoral est également attribué aux bisphosphonates par le biais de différents mécanismes : induction de l'apoptose, modulation de molécules d'adhésion et expansion de lymphocytes T cytotoxiques. Leur utilité en parallèle au traitement est indiscutable et la récente large revue Cochrane de 2012 n'a pas montré de supériorité des non-aminobisphosphonates mais probablement une supériorité du zoledronate (**Anne C, Michel AD, 2013**).

#### d. Imides (les immunomodulateurs)

De façon plus récente, des agents immunomodulateurs sont utilisés dans le traitement du myélome multiple pour leur capacité à stimuler l'activité des cellules de l'immunité aux propriétés anti-tumorales

Thalidomide, lenalidomide et pomalidomide (pas encore enregistrée en Suisse) sont des agents antiangiogéniques très efficaces dans le MM. Ces agents agissent de façon complexe au niveau des interactions des cellules myéломateuses et du microenvironnement de la moelle osseuse.

#### **d.1 Thalidomide**

C'est un ancien médicament utilisé comme un agent sédatif, et retiré du marché en 1962 en raison de ses effets tératogènes.

La thalidomide a obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) européenne en avril 2008 et est de nouveau commercialisé en France depuis octobre 2009 par le Laboratoire Celgène (gélule à 50 mg). Il est indiqué, en association avec le melphalan et la prednisone, pour le traitement des patients âgés de plus de 65 ans présentant un myélome multiple non traité ou présentant une contre-indication à la chimiothérapie à haute dose (ANSM, 2013).

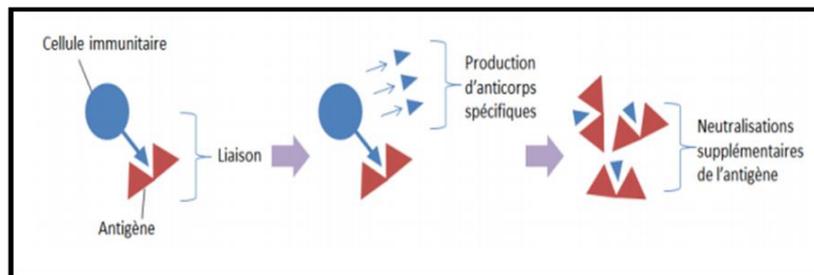
#### **d.2 Dérivés de la Thalidomide : Lénalidomide (Revlimid©) et Pomalidomide (Pomalyst©)**

Le lénalidomide (Revlimid) est un médicament immunomodulateur semblable à la thalidomide. C'est un dérivé structural de la thalidomide, à laquelle on a rajouté un groupe amine et enlevé un groupe carbonyle. Comme il est plus puissant que la thalidomide, ses effets secondaires ont tendance à être différents et pires. On administre le plus souvent du lénalidomide quand le myélome récidive ou ne réagit plus au traitement.

POMALYST® (pomalidomide) en association avec la dexaméthasone (POMALYST®+LD-dex) est indiqué pour les patients atteints de myélome multiple (MM) chez qui le bortézomib et la lénalidomide ont échoué, qui ont déjà reçu au moins deux formes de traitement et dont la maladie a progressé lors du plus récent traitement (Pomalyst, 2018).

#### **e. Anticorps monoclonaux**

Le concept de l'utilisation d'anticorps à visée thérapeutique a émergé après 1899, date à laquelle, pour expliquer la réponse immunitaire, Paul Ehrlich a développé la « Side Chain Theory », théorie selon laquelle des récepteurs capables de lier spécifiquement des antigènes existent à la surface des cellules immunitaires. De cette liaison résultent l'activation de la cellule immunitaire et la production d'anticorps libres sanguins, capables de neutraliser l'antigène, comme représenté sur la figure ci-dessous (figure N° 18) (Peret-Phichitkul A, 2017).



**Figure N°18 : Représentation de la liaison récepteur-antigène et production d'anticorps (Peret-Phichitkul A, 2017).**

### **b. Anticorps monoclonaux anti-CD38**

Le daratumumab, anticorps monoclonal humanisé dirigé contre le CD38, marqueur exprimé à la surface des plasmocytes myélomateux, est le premier anticorps monoclonal ayant montré, en monothérapie, une activité dans le myélome (**Lionel K, 2016**).

Le mécanisme d'action de cet anticorps dirigé contre la protéine CD38 est multifactoriel et implique une composante de cytotoxicité médiée par les anticorps et une autre liée à son activité immunomodulatrice. Une fois l'anticorps lié à la cellule myélomateuse, l'activation du système du complément, l'activation de cellules NK, la phagocytose dépendante des anticorps et l'apoptose par réticulation provoquent la lyse tumorale. La protéine CD38 s'exprime également à la surface de cellules B et T régulatrices de sorte que l'administration du daratumumab entraîne une augmentation du nombre de lymphocytes T cytotoxiques CD8+ et de lymphocytes T auxiliaires CD4+ (**Pierre L et al, 2018**).

### **c. Élotuzumab**

L'élotuzumab est un anticorps humanisé dirigé contre CS1 (encore appelée SLAMF7), glycoprotéine de surface exprimée à la surface des plasmocytes tumoraux mais également par les cellules NK. Il exerce son action d'une part en activant directement les cellules NK, stimulant alors leurs activités cytotoxiques, et d'autre part en se fixant sur les plasmocytes tumoraux, exerçant ainsi un mécanisme de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) médiée également par les cellules NK (**Lionel K, 2016**).

Le mécanisme d'action de l'élotuzumab est médié par les cellules NK qui se trouvent activées de façon directe et indirecte afin d'arriver à l'extermination des cellules du myélome (**Pierre L et al, 2018**).

### **d. Corticostéroïdes**

Les corticostéroïdes comme la dexaméthasone ou la prednisone sont utilisés en association avec les autres molécules pour leur activité à la fois anti-inflammatoire et anti-

myélomateuse. Ils provoquent l'apoptose de nombreuses cellules immunitaires, dont les plasmocytes. Ils permettent également de réduire certains effets indésirables comme les nausées et vomissements provoqués entre autres par la chimiothérapie, mais peuvent induire une augmentation du poids, l'apparition ou l'aggravation d'un diabète, des problèmes d'insomnie, ou encore de l'ostéoporose (**Peret-Phichitkul A, 2017**).

### **II.10.7. Stratégies thérapeutiques dans la prise en charge du myélome multiple**

Les patients présentant un myélome multiple symptomatique doivent être traités. En revanche, des essais cliniques randomisés ont montré que le traitement des myélomes multiples asymptomatiques (Stade I de Salmon Durie) ne permettait pas d'améliorer la survie par rapport à un traitement au stade symptomatique (**Armoiry X, 2007**).

#### **a. Myélome asymptomatique**

En dehors de protocoles de recherche, les patients asymptomatiques relèvent d'une abstention thérapeutique avec surveillance régulière de l'évolution de la maladie.

Pour la surveillance des patients, les recommandations en 2010 de l'IMWG préconisent de répéter le bilan 2 à 3 mois après le diagnostic puis tous les 4 à 6 mois pendant un an puis tous les 6 à 12 mois (**Kyle RA et al, 2010**).

Un traitement peut être discuté en cas de myélome de stade I (selon la classification de Durie - Salmon) rapidement progressif (**Mateos MV et al, 2013**).

#### **b. Myélome symptomatique**

Deux groupes de patients sont distingués, l'un est éligible pour une autogreffe et l'autre non éligibles à une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

##### **b.1 Traitement du patient éligible pour une autogreffe**

Seuls les patients atteints d'un myélome symptomatique relèvent d'un traitement adapté à l'âge, aux comorbidités et potentiellement aux facteurs pronostiques (ISS, cytogénétique). Pour les patients éligibles à une intensification (< 65 ans), le traitement d'induction doit préserver les cellules souches hématopoïétiques et permettre d'obtenir la meilleure réponse possible avant la greffe.

Ce traitement d'induction s'étale, en général, sur 3 à 4 mois et est constitué souvent de 2 ou 3 médicaments. Cette phase de traitement est ambulatoire. S'en suit la chimiothérapie à haute dose et l'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques qui nécessitent une hospitalisation d'environ 3 semaines. Pour renforcer l'efficacité du traitement intensif le patient peut recevoir encore 2 cycles du traitement d'induction après la greffe (6 à 8 semaines de traitement). Pour limiter le risque de rechute ultérieure, un traitement de maintenance par

Thalidomide ou Revlimidest possible. Si la maladie ne répond pas bien à ce plan de traitement ou que le myélome a des caractéristiques biologiques péjoratives, il peut être proposé ensuite une transplantation de cellules souches allogéniques (**Rousel M, 2008**).

### **b.2 Traitement des patients non éligibles à une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques**

Pour les patients de plus de 65 ans ou ne pouvant bénéficier d'une intensification, le traitement repose sur le melphalan et la prednisone (MP) en association avec la thalidomide. Cette association a été approuvée par l'Afssaps après validation dans deux grandes études multicentriques de phase III. Les associations MP-bortézomib ou MP-lénalidomide semblent également intéressantes. Les protocoles sont en cours d'analyse (**Rousel M, 2008**).

### **c. Traitement de rechute**

Tous les patients présentant un MM sont amenés à rechuter. La durée de rémission subséquente diminue avec chaque nouvelle ligne de traitement et est d'autant plus courte si le patient devient réfractaire au bortezomib ou «aux imides». Des schémas de traitement associant bortezomib et lenalidomide sont habituellement utilisés. D'autres agents comme la doxorubicine liposomale ou la ribomustine peuvent être efficaces dans le MM en progression ou réfractaire. A l'avenir, les dernières générations «d'imides» comme la pomalidomide ou d'inhibiteur du proteasome comme le carfilzomib, qui ne sont pas encore enregistrés en Suisse mais qui font l'objet des derniers essais cliniques, feront partie de l'assortiment thérapeutique pour traiter le MM (**Anne C, 2013**).

### **d. Traitement symptomatique**

#### **d.1 Traitement de l'anémie**

Lorsque cela est nécessaire, les transfusions de globules rouges peuvent être indiquées, les agents stimulant l'érythropoïèse suffisent le plus souvent pour corriger les anémies du myélome multiple (**Facon T et al, 2002**).

#### **d.2 Traitement des infections**

Le myélome est responsable d'infections qui peuvent être sévères principalement par la mauvaise production des bonnes immunoglobulines.

Les germes les plus retrouvés au diagnostic sont les bacilles gram positifs et plus tardivement les bacilles gram négatives chez les patients sous chimiothérapie.

Les infections évolutives ont été traitées par une antibiothérapie empirique après réalisation des prélèvements bactériologiques, avec adaptation en fonction de l'antibiogramme, tout en évitant si possible les antibiotiques néphrotoxiques.

La vaccination contre certaines infections bactériennes ou virales peut être nécessaire (pneumocoque et grippe).

#### **d.3 Traitement des thromboses**

Pendant la phase active de traitement, il y a un risque majoré de thrombose surtout veineuse ou une embolie pulmonaire qui se marque habituellement par le gonflement douloureux d'une jambe. Pour prévenir ce risque, une prévention par une petite dose d'aspirine ou par une injection sous-cutanée d'héparine (Clexane, Fraxiparine, Innohep,...) sera prescrite.

#### **d.4 Traitement de la maladie osseuse**

La maladie se développe dans la moelle osseuse et les plasmocytes anormaux peuvent abîmer l'os, le rendant plus fragile est responsable d'un excès de calcium dans le sang. Pour combattre les conséquences osseuses du myélome, plusieurs solutions existent :

- **Traitement local de l'os malade :**

La radiothérapie qui détruit les cellules cancéreuses est très efficace pour traiter la douleur ;

La chirurgie orthopédique est très utile pour stabiliser une fracture pathologique et protéger la moelle épinière en cas de tassement vertébral ;

La radiologie interventionnelle, peut corriger un tassement vertébral en injectant par voie percutanée du ciment consolidateur dans la vertèbre (techniques de vertébroplastie ou cyphoplastie). Traitement général de l'os malade : les biphosphonates (Aredia, Pamidronate, Zometa, Bonafos) (Leigh BR et al, 1993).

- **e. Traitement de l'hypercalcémie**

L'hypercalcémie est une urgence thérapeutique, elle met en jeu le pronostic vitale de patients. Son traitement repose sur l'hyperhydratation et les biphosphonates, en intraveineux, les corticoïdes et la mise en route de la chimiothérapie (Facon T et al, 2003).

#### **f. Traitement de l'insuffisance rénale**

Le traitement de l'insuffisance rénale est essentiel, il vise à corriger les facteurs favorisant la déshydratation, l'hypercalcémie et les infections urinaires, il permet aussi d'obtenir un pH supérieur ou égal à 7 pour empêcher la formation des dépôts des chaînes légères.

Dans la moitié des cas l'altération de la fonction rénale se fait au bout de 6 semaines mais des récupérations plus tardives sont possibles (Facon T et al, 2003).

#### **g. Traitement du syndrome d'hyperviscosité**

Le traitement du syndrome d'hyperviscosité associe les échanges plasmatiques (plasmaphérèses) et la mise en route rapide de la chimiothérapie (**Facon T et al, 2003**).

### **II.10.8 La greffe de cellules souches hématopoïétiques**

La greffe de cellules souches hématopoïétiques est une intervention complexe non dénuée de risque. Avant de procéder à la greffe proprement dite, on détruit la moelle osseuse malade à l'aide d'une chimiothérapie à haute dose et/ou une irradiation du corps entier. C'est ce que l'on appelle le conditionnement pré-greffe. L'objectif est qu'un maximum de cellules cancéreuses soit éliminé avant la greffe.

#### **Types de greffe**

- **Greffe autologue**

Appelé aussi autogreffe, ce sont les cellules souches du patient qui sont utilisées. Ces cellules souches sont prélevées au moment où les effets de la maladie ont été atténués le plus possible.

A l'heure actuelle, les CSH utilisées pour les greffes autologues proviennent du sang périphérique. L'utilisation des CSH issues de la moelle osseuse est devenue exceptionnel (**Jouet J.P, 2007**).

Généralement, la greffe autologue est pratiquée si le patient peut recevoir un traitement de chimiothérapie et/ou de radiothérapie de forte intensité.

- **Greffe allogénique**

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) constitue un traitement curatif des hémopathies malignes et a pour but l'éradication du clone malin grâce au conflit immunologique inhérent à l'installation des CSH du donneur chez le receveur (**Mauricette M et al, 2001**).

Dans le cas d'une allogreffe on utilise les cellules souches d'un donneur compatible c'est-à-dire le donneur et le receveur sont deux personnes différentes. Il s'agit de préférence d'un donneur apparenté (frère ou sœur).

Le receveur subira une chimiothérapie et/ou une radiothérapie dans le but de réduire sa maladie au minimum et de détruire sa moelle osseuse. On lui injectera par la suite les CSH du donneur qui reconstitueront le système immunitaire (**Jouet J.P, 2007**).

- **Greffe syngénique**

Appelé aussi isogreffe : les cellules souches sont prélevées auprès du jumeau vrai (monozygote) du patient.

Les systèmes HLA du donneur et du receveur sont donc totalement identiques ce qui permet dans certains cas de s'affranchir du conditionnement pré-greffe, notamment pour les aplasies médullaires et des traitements anti-rejets (**Gratwohl A, 2008**).

### **a. Greffons de cellules souches hématopoïétiques**

#### **b.1 Les greffes de moelle osseuse**

Le prélèvement a lieu au niveau des os du bassin une quantité suffisante de CSH pour permettre la prise de greffe. Généralement la quantité prélevée correspond à 100 ml pour 10 kg de poids du receveur. A titre d'exemple, pour un receveur qui pèse 70 kilos, 700 ml de moelle seront au minimum prélevés.

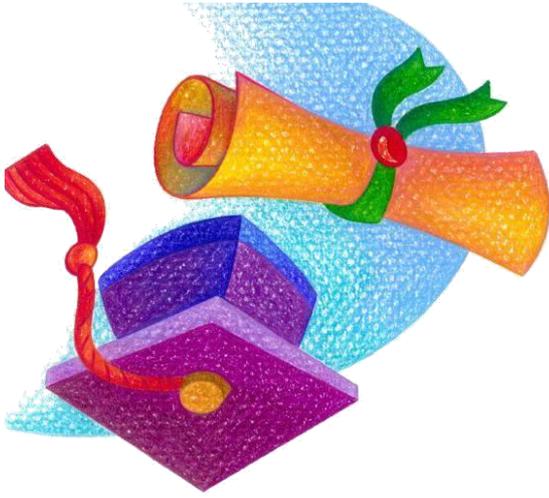
Les principaux inconvénients sont ceux liés à l'anesthésie et les douleurs au site de ponction. Ce type de ponction est de plus en plus abandonné au profit du prélèvement de cellules souches du sang périphérique (**Boccaccio C, Haioun C, 2007**).

#### **b.2 Greffes de Cellules du Sang Périphérique (CSP)**

Les cellules souches du sang périphérique (CSSP) sont des produits de cytophérèse, obtenus chez des malades ayant reçu une chimiothérapie aplasante ou un facteur de croissance hématopoïétique recombinant, tels le GM-CSF ou le G-CSF. Le donneur reçoit généralement une injection sous-cutanée de G-CSF 5 jours de suite et au 5ème jour, les CSP sont collectées directement par voie veineuse à l'aide d'une machine séparatrice qui sélectionne les cellules que l'on veut injecter au receveur et réadministre au donneur le reste du sang (procédé appelé apherèse ou cytophérèse). L'avantage de cette technique pour le donneur est qu'il n'y a pas besoin de réaliser une anesthésie générale. La procédure de cytophérèse dure 2 à 4 heures. Le traitement par G-CSF peut parfois entraîner des douleurs osseuses calmées facilement par un traitement antalgique. En cas de prélèvement insuffisant, on peut être amené à refaire la même procédure de cytophérèse le lendemain (**Christian C, Patrice M, 1995**).

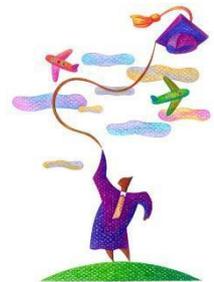
### **b. Place de l'allogreffe dans le traitement de myélome multiple**

Toutefois, le suivi à long terme des patients ayant fait l'objet d'une autogreffe montre un risque continu de rechute de la maladie pendant de nombreuses années suivant l'autogreffe, et les patients sont rarement guéris. A contrario, les études sur l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) avec un suivi à long terme ont montré dans certains cas des rémissions durables et un plus faible taux de rechute. Les avantages d'une allogreffe incluent l'utilisation d'un greffon libre de toute cellule myélomateuse et l'effet du greffon contre le myélome, ou GvM, à médiation immune (**Bénédict H, 2012**).



# Chapitre II

## Taraxacum Officinale (Pissenlit)



## I. Classification de la plante

Taraxacum officinale est une plante connue sous le nom « Dendelion » qui signifie dent de lion en s'appuyant au feuillage en forme dentelée (Abdel Kadir M et al, 2012). D'autres noms lui sont attribués tels que couronne de moine faisant références au réceptacle floral nu après la dispersion des Akènes, salade de taupe.

Le nom Taraxacum vient du grec « taraxi » qui signifie « trouble » et d'Akonei qui signifie « guérir »

Elle appartient à un genre complexe (tableau N° 13), le genre Taraxacum qui comprend des centaines d'espèces.

**Tableau N°12 : Classification du pissenlit selon la classification APG IV (Amic A, 2017).**

|                 |                      |
|-----------------|----------------------|
| Clade           | Angiosperme          |
| Clade de rang 1 | Dicotylédones vraies |
| Clade de rang 3 | Super Astéridées     |
| Clade de rang 4 | Astéridées           |
| Clade de rang 5 | Campanulidées        |
| Ordre           | Asterales            |
| Famille         | Asteracées           |
| Genre           | Taraxacum            |
| Espèce          | Taraxacum Officinale |

## II. Répartition géographique

Le pissenlit est une plante comestible et médicinale que l'on peut trouver tout au long de l'année, elle fait partie des plants sauvages, elle se rencontre partout en Europe, en Sibérie, en Amérique du Nord et du Sud, au Japon, en Asie et en Afrique du Nord (**Quershi S et al, 2017**).

## III. Description Botanique

Cette plante est facilement reconnaissable, il s'agit d'une plante vivace herbacée acaule c'est-à-dire aucune tige n'est produite, les feuilles émergent d'un seul bourgeon située au ras du sol, elle mesure entre 5 et 30 cm (figure N°19) (**Coralie B, 2010**).



**Figure N°19 : Planche botanique de Taraxacum Officinale (Wirngo et al, 2016).**

**a. Feuilles**

Les feuilles de pissenlit ont une forme dentelée de couleur vert foncé, elle forme une rosette de base au bas du sol (Ali, 1989).

**b. Racines**

Les racines de pissenlit sont pivotantes et descendent profondément sous la terre avec une longueur de 15 cm. Elles ont une couleur marron à l'extérieur et blanche à l'intérieur (Ali, 1989).

**c. Fleurs**

Cette plante présente un grand nombre de toutes petites fleurs accolées entre elles au sein d'un plateau en forme d'assiette, appelé capitule, et qui termine le pédoncule floral pouvant atteindre une vingtaine de centimètres de hauteur.

Les fleurs présentent cinq pétales jaune orangé, soudés entre eux et formant une languette en forme de lanière de ceinture, qui ressort du capitule (on dit que les fleurs sont ligulées). Les cinq sépales sont hypotrophiés et réduits à de fins poils. L'androcée est composé de cinq étamines à anthères soudées entre elles et le gynécée est bicarpellaire gamocarpique (bien qu'un seul des deux carpelles soit véritablement fertile) (F.H.Wigg, 1780).

Les fleurs sont utilisées par les abeilles et autres pollinisateurs et peuvent être une source importante de nectar au début de la saison ou peu de fleurs fleurissent.



**Figure N°20 : Capitule de Pissenlit (Candais, 2019).**

#### **d. Fruits**

Le fruit est un akène ornémenté d'un toupet de poils (le pappus) en forme d'ombrelle, qui assure ainsi une meilleure portabilité de celui-ci dans l'air par les courants aériens. La graine enfermée dans le fruit est alors disséminée par le vent (anémochorie) (F.H.Wigg, 1780).



**Figure N°21 : Fruit d'un capitule de pissenlit (Candais, 2019).**

#### **IV. Composition chimique**

La composition phytochimique de la plante est clairement identifiée dans plusieurs études. Les études phytochimiques ont démontrés la présence des phénylpropanoïdes, polysaccharides (Eric et al, 2009), des flavonoïdes, des acides hydroxycimaniques, d'acide chlorogénique, des coumarines, les feuilles sont riches en vitamines dont  $\beta$  carotène, elles contiennent également la choline et les oligo-éléments dont essentiellement le fer, le magnésium, le silicium, le sodium, le potassium, le cuivre, le zinc et le phosphore (Tabassum F et al, 2018). D'autres part, les racines sont riches en glycosides amers, tanins, stérols, huiles volatiles, taraxacine, taraxacérines, triterpènes, asparagine et insuline qui représente le principal polysaccharide retrouvé dans la racine (Sheezan R ; Bharti S, 2014).

Par ailleurs, le latex de pissenlit contient trois classes de métabolites secondaires :

- Les esters phénoliques d'inositol
- Les terpènes d'acétates
- L'ester  $\beta$ -D- glucopéranosyl de l'acide taraxinique (**Huber M et al, 2015**).

La composition de pissenlit peut y avoir des variations, cela dépend de la saison, la partie analysé et la nature du sol par exemple la quantité de l'insuline présente dans la racine en automne est de 41% alors qu'en printemps est de 2% (**Chütz K et al, 2006**).

## V. Propriétés nutritionnelles de pissenlit

Le pissenlit renferme des propriétés nutritionnelles très importantes, cette plante contient les fibres 2.7g pour 100g qui favorisent la bonne santé de la flore intestinale, les feuilles fraîches de pissenlit contiennent (pour 100g) 85g d'eau, 2.5 de protéines, 0.85g de lipides et 6.1 g de glucides, de plus elles apportent 48.8 kcl. Sa teneur en vitamines et minéraux est représenté dans le tableau N° 14 (**Candais, 2019**).

**Tableau N°14 : Quantité de vitamines et de minéraux présent dans la feuille de pissenlit et apport quotidien de références (Candais, 2019).**

| Nom de la vitamine ou de l'élément minéral | Quantité de 100 g pour les feuilles fraîches | Apport quotidien de références |
|--|--|--------------------------------|
| Vitamine A                                 | 975 $\mu$ g                                  | 800 $\mu$ g                    |
| Vitamine B 1                               | 0.19 mg                                      | 1.1 mg                         |
| Vitamine B 2                               | 0.2 mg                                       | 1.4 mg                         |
| Vitamine B 3                               | 0.8 mg                                       | 16 mg                          |
| Vitamine B 6                               | 0.25 mg                                      | 1.4 mg                         |
| Vitamine C                                 | 37.5 mg                                      | 80 mg                          |
| Vitamine E                                 | 3.44 mg                                      | 12 mg                          |
| Calcium                                    | 62.3 mg                                      | 800 mg                         |
| Cuivre                                     | 0.067 mg                                     | 1 mg                           |
| Fer  | 3.1 mg                                       | 14 mg                          |
| Magnésium                                  | 13.2 mg                                      | 375 mg                         |
| Manganèse                                  | 0.16 mg                                      | 0.2 mg                         |
| Phosphore                                  | 66 mg  | 700 mg                         |
| Potassium                                  | 397 mg                                       | 2000 mg                        |
| Zinc                                       | 0.21 mg                                      | 10 mg                          |

## VI. Effet thérapeutique de pissenlit

Les bienfaits du pissenlit ont été démontrés depuis l'antiquité, surtout dans la médecine traditionnelle chinoise où elle est utilisée pour traiter les maladies hépatiques et aussi pour son activité antibactérienne (**Fonyiy et al, 2016**).

La feuille et la racine de pissenlit ont été étudiées pour leurs effets sur la digestion, principalement sous forme de stimulants digestifs. La racine a été étudiée pour les propriétés adoucissantes, prébiotiques, hypoglycémiques, et effets immunomodulateurs. La feuille de pissenlit a également été étudiée comme diurétique et modulateur de l'inflammation (**Eric Y et al, 2009**).

La feuille de pissenlit chinois (*T. mongolicum*) était la première mentionnée par écrit dans la Tang Materia Medica (659 après JC). Elle est considérée comme un remède précieux en médecine chinoise, topique et interne, pour traiter les abcès, réduire l'inflammation des yeux et provoquant la diurèse (**Eric Y et al, 2009**).

Les recherches sur cette plante portent essentiellement sur l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antidiabétique. Une étude qui a été réalisée par Sumath M et Rana A sur des rats a montré que des extraits de pissenlit ont une activité antioxydante et diurétique importante (**Sumath M et Rana A, 2006**). Une recherche qui porte sur l'activité antioxydante montre que les flavonoïdes et des dérivés de l'acide coumarique contenu dans la fleur du pissenlit ont une forte activité antioxydante et ces résultats sont basés sur le test du DPPH et l'activité réductrice dérivée de la teneur phénolique du DFE (**Hu C et al, 2005**). Les auteurs d'une méta-analyse publiée en 2020 soulignent également que le pissenlit a des effets hépatoprotecteurs contre les agents chimiques grâce à ses effets antioxydant et anti-inflammatoire (**Mohaddesse M, Mouna M, 2020**). D'autre part, les essais cliniques préliminaires montrent que l'utilisation des extraits de feuilles fraîches augmente l'excrétion des fluides chez les personnes saines (**Bevin A et al, 2009**). De plus, un essai réalisé par Goksi et al montre l'effet hypoglycémiant du pissenlit chez les personnes non diabétique (**Goksi et al, 2010**). Par ailleurs, un autre essai clinique montre que le pissenlit possède des propriétés antiathérogène en diminuant le taux de la cholestérolémie (**Mohaddesse M, Mouna M, 2020**).

Une étude qui a été réalisée sur des rats rendus obèse afin de tester l'effet de l'extrait aqueux de pissenlit sur l'évolution des paramètres lipidiques plasmatiques et tissulaire a montré que cet extrait a des effets bénéfiques dans la régulation de la dyslipidémie et la glycémie aussi dans le traitement de l'obésité (**LIFA Fa, LIFA S, 2019**).

D'autre part, Colle D et ces collaborateurs soulignent que l'extrait de fruit de Taraxacum Officinale a une forte activité antioxydante qui permet la protection des tranches de cerveau de la mort cellulaire induite par SNP et cette activité est due à la présence des composés phénoliques (Colle D, 2012).

De plus, une autre étude met en évidence l'activité antioxydante des extraits méthaloniques de feuilles du pissenlit qui ont été fractionné dans différents solvants. Les résultats de cette étude montrent que les fractions d'acétate d'éthyl et de butanol présentent une activité antioxydante élevée pour l'ensemble des tests par contre la fraction d'hexane avait une faible activité (Tetty et al, 2014).

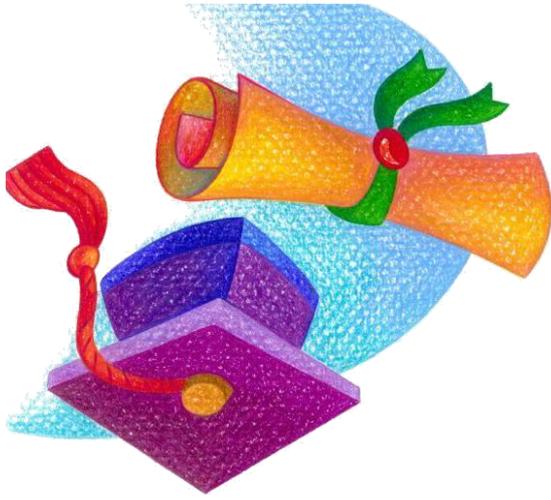
Un groupe de chercheurs ont évalué l'activité anti-inflammatoire du pissenlit in vitro. Ils ont pris comme référence pour la mesure de cette activité l'inhibition de la lyse de la membrane HRBC induite par l'hypotonie, les résultats montrent que l'extrait possède une activité anti-inflammatoire importante grâce à sa teneur en alcaloïdes, flavonoïdes et les terpenoïdes (Amin Mir M et al, 2015). Par ailleurs, les résultats obtenus par M. Emir ces collaborateurs révèlent que l'extrait méthalonique et aqueux de pissenlit présente des propriétés inhibitrices de  $\alpha$  amylase et  $\alpha$  glucosidase (Amin Mir M et al, 2015).

Les racines de pissenlit ont une action adoucissante distincte et propriétés prébiotiques en raison de leur teneur en inuline ; les racines récoltées à l'automne ont la plus forte teneur en inuline (Trojanová I et al, 2004).

Une étude qui été réalisée sur des lapins nourris avec un régime riches en cholestérol afin de déterminer l'effet hypolipidémique et antioxydants a montré que le traitement avec la racine et la feuille de pissenlit agit positivement sur la modification des activités enzymatiques, antioxydante et sur le profil lipidique. Les feuilles et les racines de pissenlit ont un effet protecteur contre l'athérosclérose liée au stress oxydatif (Ung-Kyu C et al, 2010).

## VII. Toxicité

Les études toxicologiques qui portent sur le pissenlit sont très limités, cependant il existe quelques recherches qui ont montré une légère hypotension ainsi que la possibilité de dermatite de contact chez les personnes qui présente une hypersensibilité vis-à-vis les lactones (Fariat et al, 2019).



# Chapitre III

## Matériels et méthodes



## I. Objectif

L'objectif principal de cette étude est de voir l'intérêt thérapeutique de Taraxacum Officinale (Pissenlit) qu'elle peut apporter pour limiter l'évolution du myélome multiple. Nous avons évalué l'activité anti-myéломateuse de cette dernière chez le rats wistar rendu myéломateux. Pour cela nous avons établis plusieurs objectifs secondaires :

- ✚ Evaluer le profil épidémiologique et clinique des patients atteints de myélome multiple.
- ✚ Etudier le profil biochimique et déterminer l'intérêt des dosages sériques et urinaire dans le diagnostic du myélome multiple
- ✚ Déterminer la place de l'autogreffe dans la prise en charge des patients myéломateux.
- ✚ Réaliser une enquête pharmacobotanique sur l'utilisation de pissenlit dans la région Ouest d'Algérie
- ✚ Identifier les différents composants et évaluer l'activité antioxydante des racines et des feuilles de pissenlit
- ✚ Etudier la toxicité aigüe des racines de pissenlit chez le rat wistar

## II. Etude épidémiologique et profil biochimique des patients atteint de myélome multiple

Il s'agit d'une étude rétrospective et analytique réalisée au niveau du service d'hématologie du Centre Hospitalo-Universitaire Tlemcen « CHUT ». La population étudiée est composée de 100 sujets souffrant du myélome multiple, entre 2018- 2021et dont les dossiers sont répertoriés au niveau du laboratoire de Biochimie CHUT et pour lesquels un dossier médical était exploitable.

### a. Critères d'inclusion

Nous avons procédé au recrutement des malades à partir des registres de l'immunotypage : immunofixation (IF) du laboratoire de biochimie de CHUT, utilisé pour identifier les cas de MM dans l'ensemble des services durant la période de l'étude. Dans tous les cas, chaque patient présentant, au niveau de l'électrophorèse des protéines sériques et/ou urinaires, une anomalie évoquant un MM (pic monoclonal, hypogammaglobulinémie, hypoprotidémie,...) a fait l'objet d'une exploration biochimique complémentaire. Notre étude a inclus des patients chez qui la confrontation des critères cliniques, biochimiques, cytologiques et radiologiques a permis de confirmer le diagnostic de MM.

Le respect de l'anonymat des patients ainsi que la confidentialité des données ont été assurés par la restriction de leur accès seulement aux médecins.

#### **b. Caractéristiques étudiées**

Une fiche d'exploitation a été réalisée pour chaque patient lors de l'analyse de son dossier médical. Elle permet d'identifier :

- + Les caractéristiques épidémiologiques : nom, âge, sexe, origine
- + Les renseignements cliniques : motifs d'hospitalisation, antécédents pathologiques.
- + Les résultats des analyses biologiques, réalisées dans le cadre du diagnostic, mais également pour l'évaluation pronostique :
- + Les paramètres analysés dans cette étude sont essentiellement :
- + Bilan protidique, notamment la protidémie, l'électrophorèse des protéines sériques (EPS) (zone de migration, taux du composant monoclonal), l'immunotypage sérique, le dosage pondéral des immunoglobulines (Ig) et la recherche et l'identification de la Protéinurie de Bence Jones (PBJ).
- + La créatininémie et la protéinurie des 24h.
- + Bilan hématologique : vitesse de sédimentation (VS). Numération formule sanguine (NFS), Le Myélogramme, la  $\beta$  2 microglobuline, la C-Réactive protéine (CRP) et la lactase déshydrogénase (LDH).

### **III. Etude épidémiologique sur la place de l'autogreffe dans la prise en charge des patients atteints de Myélome multiple**

Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive et analytique effectuée sur les dossiers de malades atteints de myélome multiple et qui ont subi une autogreffe. Cette enquête s'est déroulée dans la région ouest d'Algérie sur une période de 10 ans allant du 2009 jusqu'à 2019.

**Critères d'inclusion :** ont été inclus, les dossiers de patients tout âge et sexe confondu, suivis en consultation hématologique ou hospitalisés qui ont eu une autogreffe, dont les dossiers ont été retrouvés.

**Critères d'exclusion :** n'étaient pas inclus dans notre étude les cas de patients autogreffés en dehors de notre période d'étude.

Ces différents critères d'inclusion et d'exclusion ont permis de sélectionner 319 patients qui ont subi une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

La réponse thérapeutique, la progression et la rechute ont été définies d'après les critères d'EBMT et international myeloma working groupe. La rémission complète a été définie par la disparition du composant monoclonale sérique et urinaire et la disparition des plasmocytomes

extra-médullaire et l'état de progression a été défini par l'augmentation du composant monoclonale sérique > 25% et augmentation > 25% de la plasmocytose médullaire (**Bladé J et al, 1998**). La survie globale est calculée à partir du premier jour de l'autogreffe

Toutes les données ont été enregistrées sur le logiciel IBM SPSS version 25, pour le croisement des variables nous avons le test de Khi-deux et le test Anova sur logiciel IBM SPSS statistics.

#### **IV. Enquête ethnobotanique sur l'utilisation de pissenlit dans la région Ouest d'Algérie**

Il s'agit d'une étude ethnobotanique qui a été réalisé entre juillet 2019 et mars 2020 auprès de 1000 personnes interrogés aléatoirement dans la région Ouest d'Algérie ayant pour objectif de décrire l'utilisation du pissenlit dans le traitement des différentes affections. Cette enquête a été réalisée à l'aide d'un questionnaire pré établi, Les données recueillies sont : le sexe, l'âge, le niveau académique, situation familiale, lieu de résidence et l'utilisation de la plante.

Toutes les données ont été enregistrées et analyser par le logiciel IBM SPSS version 25.

#### **V. Caractérisation de la plante**

##### **Matériel végétal**

L'échantillon de *Taraxacum Officinale* utilisé au cours de cette étude a été récolté à partir de deux régions : la région de la Moselle en France et la région d'Annaba en Algérie.



**Figure N°22 : Pissenlit (*Taraxacum officinale*)**

## VI. Etude phytochimique

### a. Préparation des extraits

Les feuilles et les racines récoltés ont été lavés puis séchés à l'air libre et à l'abri de la lumière ensuite broyé à l'aide d'un broyeur électrique.

10 g de la poudre récupéré ont été macéré à froid pendant 24h sous agitation avec 100 ml de solution éthanolique à 70%. L'extrait obtenu à ensuite été filtré à l'aide d'un papier filtre et évaporé à sec à 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif à vide.

### b. Détermination de rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction (**Harborne, 1998**). Les pourcentages des extraits ont été calculés par la formule suivante :

$$R\% = M/M_0 \times 100$$

**R%** : Rendement exprimé en %

**M** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme de l'extrait végétal à traiter

### c. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est le premier pas dans la recherche des molécules bioactives. Il permet de déterminer les différentes classes de composés chimiques. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation.

#### c.1 Alcaloïdes :

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec le réactif de Dragendorff. Mettre 0.2 ml de chaque extrait méthanolique dans un tube à essai puis nous avons ajouté 5ml HCL à 1%. Ce mélange a été mis au bain-marie après refroidissement nous avons ajouté 5 gouttes de réactifs de Dragendorff. Un test positif est révélé respectivement par l'apparition d'un précipité blanc ou brun.

#### c.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine. Mettre 3ml de chaque extrait méthanolique dans un tube à essais puis ajouté quelques gouttes d'HCL concentrée et quelques tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence par la coloration : rose, orange ou rouge.

### c.3 Terpenoïdes

Mettre 5 ml de chaque extrait dans un tube à essai ensuite ajouter 2 ml de chloroforme et 3 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrée. La présence des Terpenoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marron à l'interphase.

### c.4 Stéroïdes

Mettre 5 ml d'extrait, ajouter 5 ml d'anhydride acétique et plus de 20 gouttes d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrée. Les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration violette virant au vert.

### c.5 Tanins

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de chaque extrait, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub> diluée à 1%

- ✚ L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleue verte indique la présence des tanins.
- ✚ L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tanins catéchiques.
- ✚ L'apparition d'une coloration bleue-verte indique la présence des tanins galliques

### c.6 Saponosides

Mettre 2 ml de chaque extrait dans un tube à essai ensuite ajouté 2 ml de l'eau distillée puis agiter fortement pendant 30 secondes de façon horizontale. La présence des Saponosides est révélée par l'apparition d'une mousse.

### c.7 Quinones

Mettre 5 ml d'extrait dans un tube à essais puis ajouté quelques gouttes de NaOH à 1%, l'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones.

### c.8 Anthraquinones

Les anthraquinones ont été identifiées par la procédure suivante : Mettre 10 ml d'extrait dans un tube à essais, ajouté 5 ml de NH<sub>4</sub>OH à 10% puis agiter fortement L'apparition de couleur violette indique un test positif.

### d. Dosage des polyphénols

Le contenu total de polyphénols a été estimé selon la méthode colorimétrique basée sur le réactif de Folin Ciocalteu (V.L.Singleton et al, 1999). Le réactif est formé d'acide phosphotungestique H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub> et d'acide phosphomolybdique H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène

(Mo8O3), ce qui nous aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre 765 nm.

Pour cela des solutions méthanoliques ont été préparé à partir de chaque extrait à partir de 1mg/ml cette solution a servi aussi pour le dosage des flavonoïdes. De chaque solution 200 µl d'extrait est ajouté à 1 ml de réactif de Folin dilué 10 fois et 0.8 ml carbonate de sodium 7.5%. Les polyphénols totaux sont déterminés après 30 min d'incubation à température ambiante par mesure de l'absorbance à 765 nm (Spectrophotometer UV-visible)

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 1000 µg/ml).

#### **e. Dosage des flavonoïdes**

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes.

Le protocole utilisé est celui décrit par (Zhishen et al, 1999). Dans un tube à essai 500 µl de chaque extrait ont été mélangé avec 1500 µl d'eau distillé ensuite 150 µl nitrite de sodium à 5% ont été ajouté. Le mélange est mis en incubation pendant 5 min à l'obscurité et à température ambiante. Après incubation un volume de 153 µl d'AlCl3 à 10% a été additionné le mélange a été réincubé dans les conditions précédemment mentionnées durant 6 min. En fin, 533 µl NaOH à 4% est additionné au mélange. L'absorbance est lue immédiatement à 510 nm.

D'autre part, la courbe d'étalonnage est réalisée par la catéchine, utilisée comme standard, à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par gramme d'échantillon

#### **f. Dosage des tanins condensés**

Les quantités des tannins condensés sont estimées en utilisant la méthode à vanilline en milieu acide (**Julkunen-Titto, 1985**).

Un volume de 50 µl de chaque l'extrait est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v) et puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné et laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance à 550 nm est mesurée contre un blanc. La concentration des tannins est estimée en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme (g) du poids de la matière sèche (EC)/g à partir de la courbe d'étalonnage.

### g. Evaluation de l'activité antioxydante (DPPH)

Le test DPPH permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire, il mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le radical chimique DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le DPPH, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle.

La décoloration de la solution est proportionnelle à la concentration et au potentiel réducteur des échantillons.

Pour évaluer l'activité antioxydante, nous avons mis 3 mg de chaque extrait total de racines et de feuilles dilué dans 1 ml de méthanol. Ensuite chaque solution méthanolique est diluée à des concentrations décroissantes.

Un volume de 10 µl de de différentes concentrations en mg/ml de chaque extrait est ajouté à 1990 µl de la solution méthanolique du DPPH (0.025g/l) fraîchement préparée.

L'absorbance est mesurés à 515 nm après 30 min d'incubation à température ambiante. Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH sont calculés à partir de la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{(\text{ABS blanc} - \text{ABS échantillon}) \times 100}{\text{ABS blanc}}$$

La concentration minimale d'inhibition de 50% de la DPPH (CI50) est calculée graphiquement à partir des courbes de tendance linéaire, puis utilisée pour la comparaison de l'activité antioxydante des différents échantillons.

### h. Spectrophotométrie d'absorption Atomique (SAA)

L'analyse des métaux lourds a été réalisée avec un spectrophotomètre d'absorption atomique de marque SHIMADZU model AA7000. Cette technique permet de déterminée la concentration d'un élément dans une solution basé sur le principe d'absorption de la lumière. L'échantillon est atomisé par une flamme Acétylène-air puis la lecture se fait à une longueur d'onde spécifique à chaque élément chimique dont on possède des lampes spécifique.

#### Préparation de l'échantillon

- Prendre 0,5 mg de l'échantillon séché et broyé en poudre très fine
- Prendre 25 ml±1ml (d'eau) plus l'échantillon broyé dans un bécher de 50ml ou erlenmeyer
- Ajouter 6ml de l'Acide chlorhydrique 37% et 2ml de l'Acide nitrique 65 ou 69 %
- Agiter le mélange à l'aide de Baguette d'agitation en verre et laisser reposer jusqu'à la disparition de tout phénomène de réaction
- Couvrir le récipient par un verre de montre et placer le sur une la plaque chauffante
- Porter à ébullition pendant 120 min ensuite Laisser refroidir
- Rincer le piège (verre de montre) et décanter ensuite recueillir l'eau de rinçage dans le récipient de digestion
- Décanter l'échantillon dans une fiole et rincer le récipient avec l'eau.

- Passer le résultat de digestion à travers le papier filtre de 0.45µm
- Mettre le filtrat dans une fiole de 100ml et compléter le volume jusqu'au trait de jauge 100ml

#### **i. Spectrophotométrie d'émission de flamme**

Nous avons utilisé la spectrophotométrie d'émission de flamme pour déterminer la concentration de sodium Na et potassium K dans l'extrait de racines de pissenlit.

#### **Principe**

Cette méthode consiste à exciter l'atome à l'aide de la flamme (source d'énergie) afin que l'électron de valence atteigne le niveau d'énergie supérieur. Une fois la longueur d'onde sélectionnée, l'élément peut être analysé.

#### **Mode opératoire**

Une solution de 250 ml de NaCl 1,2 mg/L et de NHO<sub>3</sub> 0,1% a été préparée ainsi qu'une solution de NHO<sub>3</sub> 0,1% seul. La solution d'NaCl est ensuite brûlée dans la flamme pour déterminer la position horizontale et verticale de la flamme afin d'obtenir un signal maximal. Ensuite, la solution sans NaCl est brûlée afin d'obtenir le signal zéro.

Deux séries de solutions étalons ont été préparées pour les ions Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> avec les concentrations suivantes en mg/L.

Les absorbances ont ensuite été mesurées afin de tracer une courbe de calibration pour chaque élément. La lampe correspondante est changée entre chaque élément. L'eau distillée a été utilisée comme blanc

## **VII. Évaluation de la toxicité aiguë des racines de pissenlit (Taraxacum officinale)**

### **a. Matériel végétal**

L'échantillon d'extrait de racines du pissenlit a été récupéré de la région de la Moselle en France. Les racines de cette plante ont été lavées et séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière, puis broyées à l'aide d'un broyeur électronique.

30 g de cette poudre ont été macérés dans 300 ml d'éthanol à 70% sous agitation pendant 24h ensuite le produit récupéré a été filtré en utilisant un papier Whatman après le filtrat a été évaporé à sec dans un évaporateur rotatif en fin l'extrait final a été séché dans l'étuve pendant 24h.

L'extrait administré aux rats a été dilué dans une solution d'éthanol à 5%.

### b. Animaux

Dans la présente étude nous avons utilisé des rats Albinos de souche « wistar », de sexe mâle, âgé de 3 mois ayant un poids moyen de 250g. Les rats ont été récupérés de l'institut pasteur d'Alger, Algérie. Les animaux sont nourris d'un régime standard sous forme de granules (composé de tourteaux de soja, céréales, phosphate monocalcique, huile de soja, carbonate de calcium, méthionine, lysine, choline et un complexe minérali-vitaminiques dont 55% de glucides, 3.4% matière grasse brute, 18% protéines brutes, 3% cellulose brute, 3% cendre brute, 14% humidité et 1.7% de vitamines).

Les rats ont été répartis en 5 lots constitués chacun de 6 rats. Ces animaux ont été traités par une injection intrapéritonéale d'extrait de racines avec des doses croissantes allant de 400 mg/kg jusqu'au 2000mg/kg et un lot témoin qui a été traité avec le véhicule (groupe N°1 : 400mg/kg, groupe N°02 : 800mg/kg, groupe N°3 : 1600mg/kg, groupe N°4 : 2000mg/kg, groupe N°05 : témoin ethanol 5 %).

**Tableau N° 14 : Répartition des groupes pour l'étude de toxicité**

| Groupe     | Dose administré |
|------------|-----------------|
| Groupe N°1 | 400 mg/kg       |
| Groupe N°2 | 800 mg/kg       |
| Groupe N°3 | 1600 mg/kg      |
| Groupe N°4 | 2000 mg/kg      |
| Groupe N°5 | Ethanol à 5%    |

### c. Détermination de la DL50

Les animaux ont été mis sous observations pendant 2h après l'injection afin de déterminer les cas de mort immédiate puis ces derniers ont été observés pendant 15 jours. Les observations ont portés sur : l'activité, difficulté de respiration, coma et gonflement de la partie d'injection.

Le nombre de mort a été mentionné pendant les 15 jours d'observation afin de déterminé la DL50.

La DL50 a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Équation : } DL50 = DL100 - (\Sigma (a \times b)/n)$$

DL50 = Dose donnant 50 % de morts ;

DL100 = Dose donnant 100 % de morts ;

a = moyenne des morts entre deux doses successives ;

b = différence entre deux doses successives ;

n = nombre d'animaux utilisés par lot (**Karber et Behrens, 1935**).

A la fin de la période expérimentale, les animaux ont été mis à jeun pendant 24h, anesthésiés et sacrifiés. Des prélèvements sanguins ont été récupérés dans des tubes EDTA et héparinés pour l'exploitation de la fonction hépatique et rénale aussi pour l'évaluation des paramètres lipidiques et hématologiques.

#### **e. Dosage biochimiques**

Pour la réalisation des dosages biochimiques des prélèvements ont été effectués au niveau de la veine cave postérieure dans des tubes héparinés ensuite les échantillons ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 min afin de récupérer le plasma pour le dosage du taux de créatinine qui repose sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium, le dosage de l'urée qui est basé sur l'hydrolyse par voie enzymatique de l'urée en ions ammoniac (NH<sub>4</sub>) et dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>). Le dosage des transaminases a été effectué selon les méthodes colorimétriques on utilisant le kit Biomaghreb®. Le principe du dosage de la glycémie repose sur des réactions enzymatiques. Pour la détermination du profil lipidique nous avons dosé le cholestérol total et les triglycérides. L'évaluation a été basée sur des réactions enzymatiques.

#### **f. Dosage hématologique**

Pour l'évaluation des paramètres hématologiques, des échantillons ont été récupérés dans des tubes EDTA pour la numération de la formule sanguine. Le dosage a été effectué à l'aide d'un automate SYSMEX XN-550 SYSMEX XS-1000i.

#### **g. Analyse statistique**

Les résultats obtenus ont été analysés par le logiciel IBM SPSS.25. Nous avons utilisé le test « ANOVA » pour l'analyse de l'ensemble de données suivi par un test post-Hoc de Tukey pour les comparaisons multiples entre les différents groupes.

Une valeur de  $p < 0.05$  est considérée significative pour l'ensemble des tests.

Dans l'analyse statistique nous avons éliminé le groupe de 2000 mg qui correspond à la dose létale 100% et le groupe de 1600mg qui a conservé un seul rat.

### **VIII. Evaluation de l'effet thérapeutique de Taraxacum Officinale**

#### **a. Induction de myélome multiple**

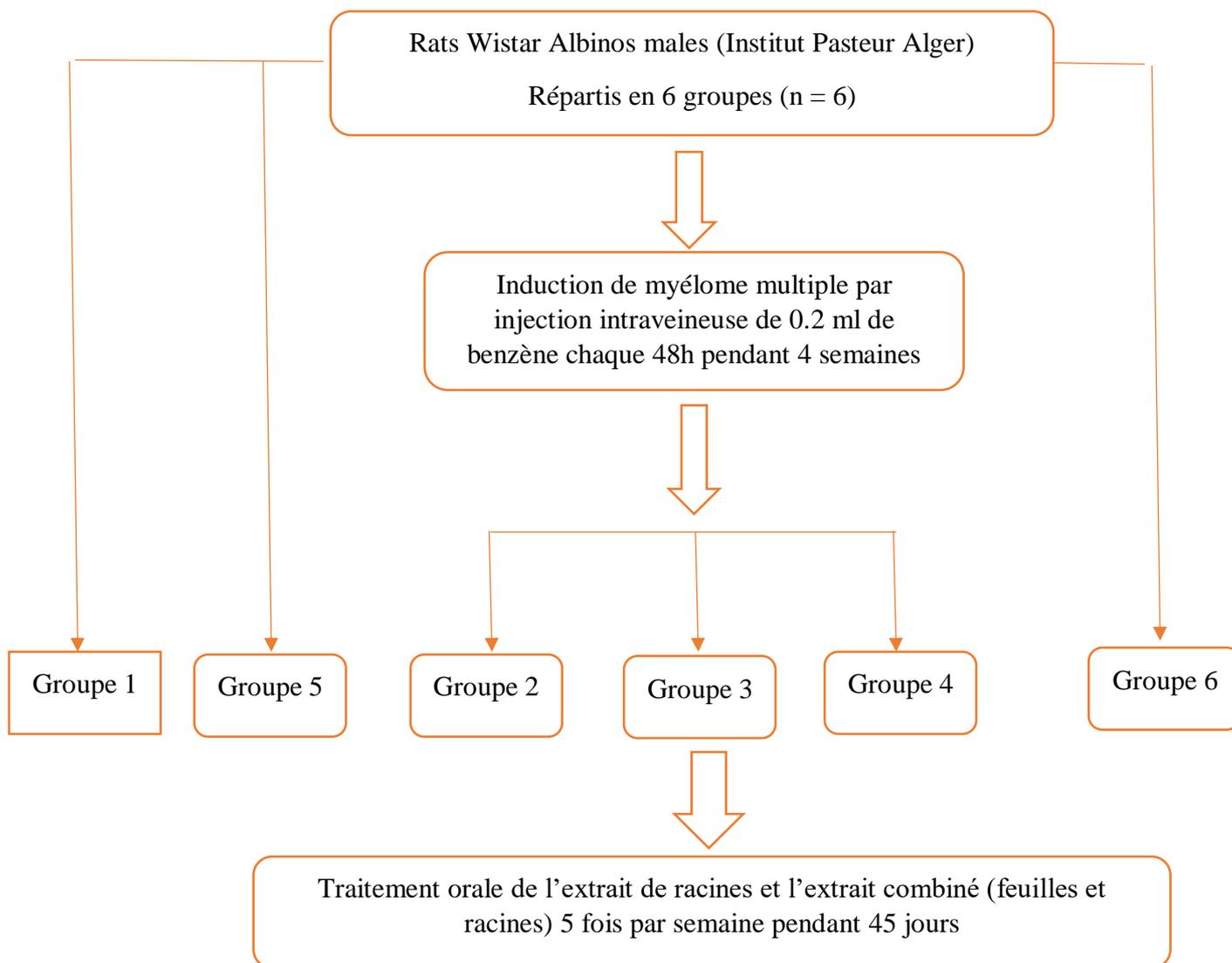
Notre étude a porté sur un groupe de 48 rats mâles de souches Wistar, d'un âge moyen de 3 mois et d'un poids moyen de 280g. L'expérimentation animale s'est déroulée au sein de l'animalerie de laboratoire de Biotoxicologie, Centre de recherche de l'université Sidi Bel Abbes. Les conditions de la température, de la photopériode, et d'hygiène sont soigneusement

respectées. Ils sont nourris d'un régime complet standard sous forme des granules ("EL AALF", Ain Fezza), composé de : céréales, tourteaux de soja, huile de soja, phosphate monocalcique, carbonate de calcium, lysine, méthionine, choline, plus un complexe minéralo-vitaminiques avec les pourcentages suivants : Glucides 55%, protéines brutes 18%, matière grasse brute 3,4%, cellulose brute 3%, cendre brute 4,9%, humidité 14%, vitamine 1,7%.

Les rats ont été répartis sur 6 lots homogènes (N=8). Les animaux de premier groupe ont reçu par gavage sérum physiologique 0.9% pendant 45 jours, le deuxième, le troisième et le quatrième groupe ont été rendus myélomateux par injection intraveineuse à travers la queue de 0.2 ml/kg de poids corporel de benzène à des intervalles de 48 heures pendant quatre semaines (Olufemi E et al, 2017). Après l'induction de myélome multiple le troisième et le quatrième groupe ont été traité par l'extrait de racines et extrait combiné de pissenlit à raison de 200mg/kg de poids corporel (Tableau N°15). Le cinquième et le sixième groupe ont reçu 200 mg/kg de poids corporel d'extrait de racines et extrait combiné racine et feuilles (50%) de pissenlit pendant 45 jours.

**Tableau N°15 : Répartition des lots d'animaux expérimentaux**

| Groupe de rat | Traitement   |
|---------------|--|
| Groupe N° 1   | 1 ml sérum physiologique 0. 9%                                       |
| Groupe N° 2   | 0.2 ml/kg benzène  |
| Groupe N° 3   | 0.2 ml/ kg benzène + 200 mg/kg extrait de racines (50%) de pissenlit |
| Groupe N° 4   | 0.2 ml/kg benzène + 200 mg/kg extrait combiné (50%) de pissenlit     |
| Groupe N° 5   | 200 mg/kg extrait de racines de pissenlit                            |
| Groupe N° 6   | 200 mg/kg extrait combiné (50%) de pissenlit                         |



**Figure N° 23 : Protocole expérimentale**

#### **b. Suivi des animaux avant sacrifice**

##### **✚ Poids corporel**

Les rats ont été pesés chaque semaine par une balance en g.

##### **✚ Observation des signes de toxicité**

Les animaux ont été mis sous surveillance durant toute l'expérimentation animale, les observations ont porté sur : gonflement de la partie d'injection, coma, mortalité, mobilité, chute de poil, changement de la couleur de la peau, difficulté respiratoire.

#### **c. Anesthésie et sacrifice**

À la fin de l'expérimentation animale, les rats sont sacrifiés au niveau du laboratoire de biologie de développement, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Djillali Liabès, Sidi Bel Abbès. Les animaux ont été mis à jeun pendant 24h avant le sacrifice, L'anesthésie est effectuée par voie respiratoire on exposant les animaux au chloroforme sous

une cloche. Le sang a été prélevé par ponction cardiaque et récupéré dans des tubes EDTA, des tubes secs et des tubes héparinés. Le sang est centrifugé, puis le sérum et le plasma sont récupérés dans des tubes épindorffs.

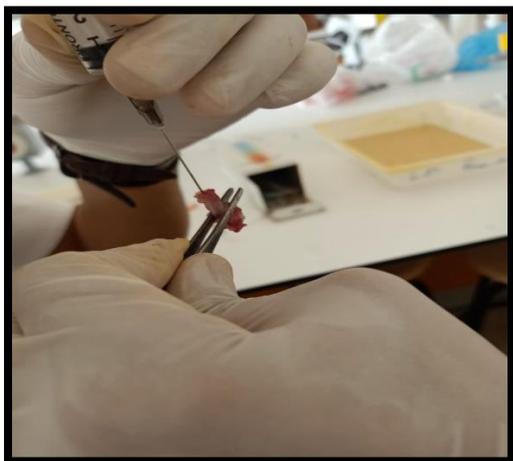
Les organes (rate, foie, reins ) sont ensuite prélevés et rincés à l'eau physiologique (NaCl à 0,9%), puis pesés et conservé dans le formol 10%.



**Figure N°24 : Fixation du rat sur la planche à dissection**



**Figure N°25 : Prélèvement du sang par ponction cardiaque**



**Figure N°26 : Ponction médullaire**



**Figure N°27 : Sacrifice du rat**



**Figure N°28 : Prélèvement des organes**

#### **d. Préparation des échantillons sanguin pour l'analyse**

##### **✚ Centrifugation**

Nous avons centrifugé les tubes pendant 5 à 10 minutes à 3000 tours/minute à température ambiante.

Les tubes héparinés : sont centrifugés directement (Aucune durée d'attente n'est nécessaire).

Pour les tubes secs : sont centrifugés aussi rapidement que possible en respectant la durée d'attente nécessaire avant la centrifugation qui ne doit être ni trop courte (une post-coagulation peut se produire dans le sérum) ni trop longue (peut provoquer des modifications du sérum), la centrifugation est réalisée après avoir cassé le caillot.

#### **e. Bilan biologique**

##### **1. Formule de numération sanguine**

L'hémogramme ou Numération Formule sanguine (FNS) est un examen important, qui permet d'évaluer l'état général de santé. Il a pour but d'apporter des informations qualitatives sur les cellules sanguines.

##### **2. Frottis sanguin**

La réalisation d'un frottis sanguin permet d'effectuer une étude morphologique des différents éléments figurés du sang et de déterminer le pourcentage respectif.

Les frottis sont généralement réalisés par étalement en couche mince. On produit un frottis manuellement en plaçant une goutte de sang sur la face d'une lame de verre, puis en l'étalant rapidement en faisant glisser une seconde lame sur la première lame, selon un angle de 45°. La coloration a été faite par le kit Hémacolor MGG.

Hémacolor provoque une coloration essentiellement pourpre des noyaux cellulaires, phénomène dû à l'interaction moléculaire entre l'éosine G et un complexe d'ADN azur B. Les deux colorants forment une complexe éosine G-ADN azur B.

L'intensité de la coloration qui en résulte dépend de la teneur en azur B et du rapport entre azur B et éosine G.

En outre la coloration qui en résulte peut être influencée par divers facteurs comme la fixation, le temps de coloration, le pH des solutions et les substances tampon. Par l'emploi de solutions tamponnées au pH 7,2, le coffret de coloration Hemacolor permet d'obtenir des colorations très stables et des résultats propres, sans précipitation.

#### Réactifs

Réactif 1 : Hemacolor solution 1 : solution fixative

Réactif 2 : Hemacolor solution 2 : réactif de coloration rouge

Réactif 3 : Hemacolor solution 3 réactif de coloration bleu

Hemacolor Comprimés tampon pH 7,2

#### Préparation des réactifs

Les réactifs 1,2 et 3 sont prêts à l'emploi, il n'est pas nécessaire de diluer les solutions étant donné que cela réduit le résultat de coloration et la stabilité.

Réactif 4 (solution tampon pH 7,2) : dissoudre en agitant 1 comprimé tampon pH 7,2 dans 1 l d'eau distillée. Il est recommandé de préparer la solution tampon un jour avant son utilisation.

#### Procédure de coloration

Les réactifs sont chacun placés dans des pots stériles, Procéder comme indiqué dans le tableau suivant :

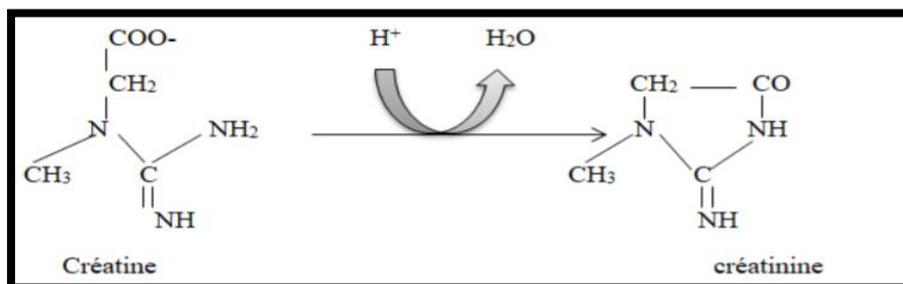
**Tableau N°16 : Procédure de coloration**

|                 |               |
|-----------------|---------------|
| Réactif 1       | 5×1 seconde   |
| Réactif 2       | 3×1 seconde   |
| Réactif 3       | 6×1 seconde   |
| Solution tampon | 2×10 secondes |
| Sécher à l'air  |               |

Entre chaque flacon, essuyer le dos de la lame afin d'éviter au maximum la contamination des autres colorants.

### 3. Créatinine

La créatinine est un produit de dégradation de la créatine du muscle squelettique qui est synthétisée au niveau du foie et du rein. Elle est essentiellement éliminée par voie rénale par filtration glomérulaire mais aussi par sécrétion tubulaire (très faible). Elle n'est pas réabsorbée au niveau tubulaire ce qui en fait un bon témoin de la fonction glomérulaire (**Dussol B et Jourde-Chiche N, 2009**).



**Figure N°29 : Catabolisme de la créatine (Réseau National de la Métrologie Française, 2015).**

L'analyse a été effectuée à partir d'un prélèvement de sang veineux prélevé sur tube hépariné.

#### Réactifs

- ✚ R1 : Acide picrique
- ✚ R2 : NaOH
- ✚ R3 : étalon

Préparation de la solution : on prend 1 volume de l'acide picrique et 1 volume de NaOH, après on conserve la solution préparée dans un flacon sombre à l'abri de la lumière à température ambiante 25°C

Longueur d'onde : 492 nm

Linéarité : 150g/l

#### Mode opératoire

**Tableau N°17 : Protocole du dosage de la créatinine**

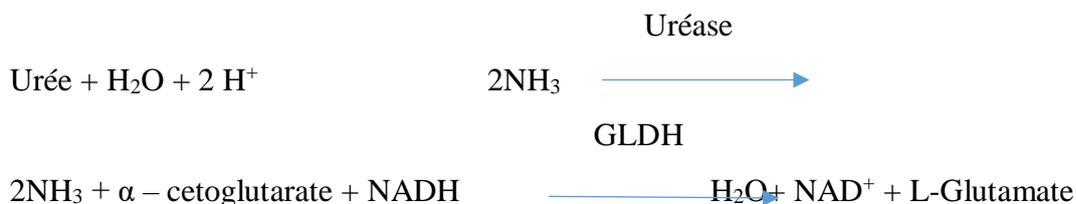
|                    | Blanc | Etalon | Contrôle Norme | Echantillon | Contrôle pathologie |
|--------------------|-------|--------|----------------|-------------|---------------------|
| Etalon             | --    | 100µl  | --             | --          | --                  |
| Echantillon        | --    | --     | --             | 100µl       | --                  |
| Réactif de Travail | 1cc   | 1cc    | 1cc            | 1cc         | 1cc                 |
| Contrôle norme     | --    | --     | 100µl          | --          | --                  |
| Contrôle           | --    | --     | --             | --          | 100µl               |

|            |  |  |  |  |  |
|------------|--|--|--|--|--|
| Pathologie |  |  |  |  |  |
|------------|--|--|--|--|--|

Après on fait la lecture cinétique « directement » sur un spectrophotomètre UV-visible

#### 4. Urée

La technique utilisée pour la détermination du taux de l'urée est la méthode cinétique utilisant l'uréase selon les réactions suivantes (**Kaplan A, 1984**) :



La concentration de l'urée plasmatique est proportionnelle à la disparition du NADH+.

#### Réactifs

- ✚ R1 : solution tampon
- ✚ R2 : hypochlorite de sodium
- ✚ R3 : étalon urée
- ✚ R4 : uréase

#### Préparation des solutions

- ✚ R1 : l'hypochlorite de sodium est à compléter avec 100 ml d'eau distillé
- ✚ R2 : uréase est à dissoudre dans la solution tampon

**Longueur d'onde :** 570 nm

**Linéarité :** 4g/l (il faut faire une dilution 1/2 NaCl).

#### Mode opératoire

**Tableau N° 18 : Protocole du dosage d'urée**

|                           | Blanc | Etalon | Contrôle Norme | Echantillon | Contrôle pathologie |
|---------------------------|-------|--------|----------------|-------------|---------------------|
| Etalon                    | --    | 10 µ   | --             | --          | --                  |
| Echantillon               | --    | --     | --             | --          | --                  |
| Réactif de travail « R1 » | 1cc   | 1cc    | 1cc            | 1cc         | 1cc                 |
| Contrôle Norme            | --    | --     | 10µl           | --          | --                  |
| Contrôle Pathologie       | --    | --     | --             | --          | 10µl                |
| Ré                        | --    | --     | --             | --          | --                  |

- ✚ On mélange bien les tubes, on l'es laisse dans le bain marie 5 minutes à 37°C
- ✚ Après 5 min d'incubation on ajoute 1cc de réactif R2 dans tous les tubes
- ✚ On fait une deuxième incubation de 5min

- ✚ On procède à la lecture via un spectrophotomètre (stabilité de la coloration 2 heures à l'abri de la lumière)

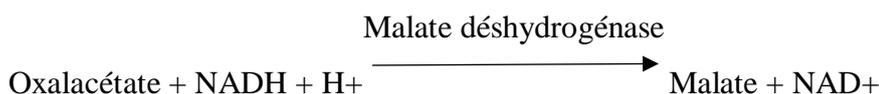
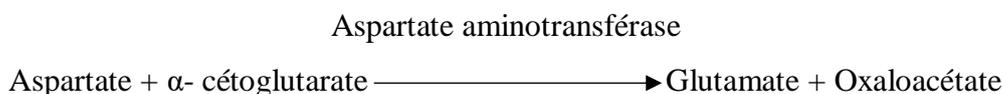
Acide urique

## 7. Dosage des transaminases TGO/TGP

### ✚ TGO : Transaminase Glutamo-oxalo-acétique

Aspartate aminotransférase (AST) ou Transaminase Glutamo-oxalo-acétique (TGO) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'aspartate à l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique en formant l'acide glutamique et l'acide oxaloacétique.

L'acide oxaloacétique produit est réduit en Malate par Malate déshydrogénase (MDH) et NADH :



Le taux de diminution de la concentration de NADH, Mesuré photométriquement, est proportionnel à la concentration d'AST présente dans l'échantillon

### Réactifs

- ✚ R1 : solution tampon
- ✚ R2 : MDH (Malte déshydrogénase)
- ✚ LDH (lactate déshydrogénase)
- ✚ NaOH

### Solution de travail

On dissout les enzymes de la solution tampon : on laisse les réactifs 15 minutes à 37°C

**Longueur d'onde :** 340 nm

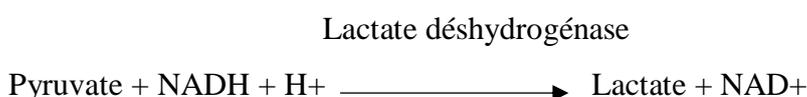
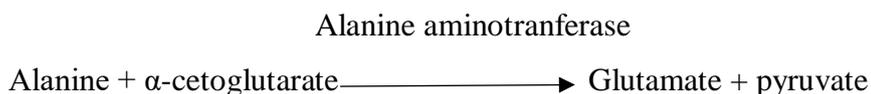
**Linéarité :** 262 nm (dilution 1/5 NaCl, 1 volume de sérum pour plus 4 volumes de NaCl)

Valeurs usuelles du TGO chez le rat Wistar mâle âgé de 8 à 12 semaines est de : 39 à 92UI/L (CHARLES R, 1982).

### ✚ TGP : Transaminase Glutamo-Pyruvique

Alanine aminotransferase (ALT) ou Transaminase Glutamo-Pyruvique (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'alanine à l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique en formant l'acide glutamique et l'acide pyruvique.

L'acide pyruvique produit est réduit en acide lactique par Lactate déshydrogénase (LDH) et NADH :



Le taux de diminution de la concentration de NADH, mesuré photométriquement, est proportionnel à la concentration d'ALT présente dans l'échantillon (**Murray et al, 1984**).

R 1 : solution tampon

R 2 : enzyme (LDH, NaOH)

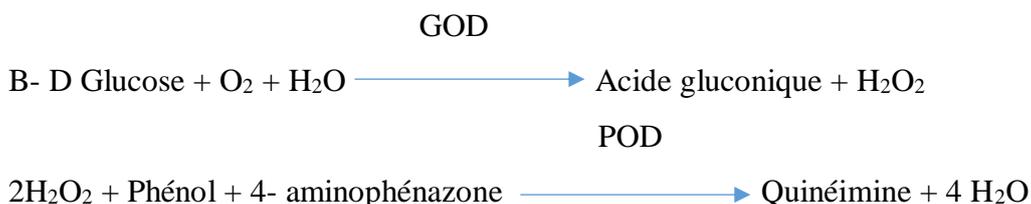
Solution de travail : on dissout les enzymes dans la solution tampon, la préparation est mise en incubation pendant 15 min à 37°C.

**Méthode de dosage :** dans un tube à essai on met 1000  $\mu$ l du réactif TGP après incubation de 10 min au bain marie on ajoute 100  $\mu$ l de sérum. L'absorbance est lue immédiatement à 340 nm.

Valeurs usuelles du TGP chez le rat Wistar mâle âgé de 8 à 12 semaines est de : 17 à 50UI/L (**Charles R, 1982**).

### 9. Glycémie

Le glucose est mesuré après une oxydation enzymatique en présence du glucose oxydase. Le peroxyde d'hydrogène formé réagit grâce à l'action catalytique d'une peroxydase, avec un phénol et la 4- amino-phénazone pour former un composé rouge violet de quinonéimine qui sert d'indicateur coloré, selon les réactions suivantes (**Barham D et Trinder P, 1972**) :



**Réactifs**

- ✚ R1 : solution tampon (tampon, phénol)
- ✚ R2 : Enzymes (glucose oxydase, peroxydase, Amino 4-antypirine)
- ✚ R3 : standard (glucose)

**Préparation de la solution**

On dissout le R2 « glucose oxydase » dans la solution tampon R1, n met le réactif dans un flacon sombre à l'abri de la lumière

Stabilité du réactif de travail : 8 semaines à 20-25 °C, ou 8 mois à 2-8 °C

**Longueur d'onde** : 505 nm, température : 37°C

**Tableau N°19 : Protocole du dosage de la glycémie**

|                     | Blanc        | Standard (étalon) | Contrôle Norme | Echantillon (sérum) | Contrôle Pathologie |
|---------------------|--------------|-------------------|----------------|---------------------|---------------------|
| Standard (R3)       | --           | 10 µl             | --             | --                  | --                  |
| Echantillon         | --           | --                | --             | 10 µl               | --                  |
| Réactif de Travail  | 1cc (1000µl) | 1cc               | 1cc            | 1cc                 | 1cc                 |
| Contrôle Norme      | --           | --                | 10 µl          | --                  | --                  |
| Contrôle Pathologie | --           | --                | --             | --                  | 10 µl               |

On laisse les 5 tubes au bain marie 10 minutes à 37 °C « incubation », puis on fait la lecture sur le spectrophotomètre (la coloration est stable 30 min)

**Linéarité** : la méthode est linéaire jusqu'à 5-6 g/l

Si la concentration en glucose est supérieur à 5g/l, recommencer le dosage sur l'échantillon dilué à ½ avec une solution de NaCl à 9 g/l. multiplier le résultat par 2.

**10. Protéine C-réactive**

La protéine C-réactive (CRP) est une protéine de la réaction inflammatoire dont le nom est lié à sa propriété d'être précipitable par un polysaccharide pneumococcique de type C en présence de calcium ionisé (**Pachot M et al, 2006**).

Réaction immunitaire entre antisérums CRP liés aux particules latex avec la protéine C contenue dans le sérum en cas d'une infection.

Le réactif de latex PCR direct est constitué d'une suspension de particules de polystyrène sensibilisées avec des gammaglobulines anti-PCR humaine, lorsque le réactif entre en contact avec le sérum, une réaction antigène-anticorps se produit, se traduisant par l'agglutination des particules de latex qui forment des agrégats facilement visibles

**Réactifs**

✚ Réactif de latex

**Mode opératoire**

Après centrifugation, on sépare le sérum sanguin, dans la plaque on met 40µl du sérum + une goutte de réactif, on mélange le sérum avec le réactif pendant 3min.

✚ S'il n'y a pas une agglutination, le résultat est négatif

✚ S'il ya une agglutination, le résultat est positif, dans ce cas on réalise la dilution

On prend six tubes :

- ✓ Le premier tube : 100µl de l'eau physiologique + 100µl de sérum
- ✓ Le deuxième tube : 100µl de l'eau physiologique + 100µl du mélange du premier tube
- ✓ Le troisième tube : 100µl de l'eau physiologique + 100µl du mélange du deuxième tube
- ✓ Le quatrième tube : 100µl de l'eau physiologique + 100µl du mélange du troisième tube
- ✓ Le cinquième tube : 100µl de l'eau physiologique + 100µl du mélange du quatrième tube
- ✓ Le sixième tube : 100µl de l'eau physiologique + 100µl du mélange du cinquième tube

On prend 40µl de chaque tube + une goutte de réactif

**11. Total Protéine**

Les protides totaux, que l'on nomme également protidémie ou protéinémie, désignent la concentration de protéine dans le plasma sanguin.

**Réactif :**

✚ R1 : NaOH : milieu alcalin

✚ R2 : CuSO<sub>4</sub> : Sulfate de cuivre

✚ R3 : Iodure de Sodium, potassium

**Mode opératoire**

**Tableau N°20 : Protocole du dosage de protéine totale**

|                                   | Blanc  | Etalon | Contrôle norme | Echantillon | Contrôle pathologie |
|-----------------------------------|--------|--------|----------------|-------------|---------------------|
| Etalon                            | --     | 25µl   | --             | --          | --                  |
| Echantillon                       | --     | --     | --             | --          | --                  |
| Réactif du travail                | 1500µl | 1500µl | 1500µl         | 1500µl      | 1500µl              |
| Contrôle norme                    | --     | --     | 25µl           | --          | --                  |
| Contrôle pathologie               | --     | --     | --             | --          | 25µl                |
| Incubation pendant 10 min à 25 °C |        |        |                |             |                     |

## 12. Bilan lipidique

### 1. Cholestérol total

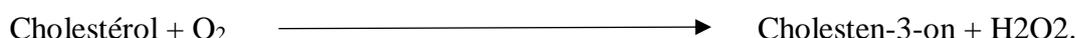
L'évaluation du taux du cholestérol total dans le sang a été faite par des dosages enzymatiques selon la méthode de **Fasce (1982)**.

Le cholestérol estérase hydrolyse les esters. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est formé dans l'oxydation enzymatique consécutive du cholestérol par le cholestérol oxydase selon les réactions suivantes :

#### CHE : Cholestérol estérase



#### CHOD: Cholestérol Oxydase



#### POD: Peroxydase



#### Réactif :

✚ **R1** : tampon pH 6,9 phénol

✚ **R2** : enzymes : Cholestérol estérase (CHE) Cholestérol oxydase (CHOD) Peroxydase (POD) 4 - Aminophénazone (4-AF)

✚ **R3** : Cholesterol CAL

**Préparation de la solution (RT)** : Dissoudre le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans un 1 flacon de tampon R 1. Refermer et mélanger doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout  
Stabilité de la solution : 4 mois au réfrigérateur (2-8°C) ou 40 jours à 15-25°C.

#### Mode opératoire

**Tableau N°21 : Protocole du dosage du cholestérol total**

|                        | Blanc | Etalon | Echantillon |
|------------------------|-------|--------|-------------|
| RT (ml)                | 1.0   | 1.0    | 1.0         |
| Etalon µl              | --    | 10     | --          |
| Echantillon µl         | --    | --     | 10          |
| Longueur d'onde 550 nm |       |        |             |

Mélanger et incuber pendant exactement 5 minutes à 37°C ou 10 min à température ambiante.  
Lire l'absorbation (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 60 minutes.

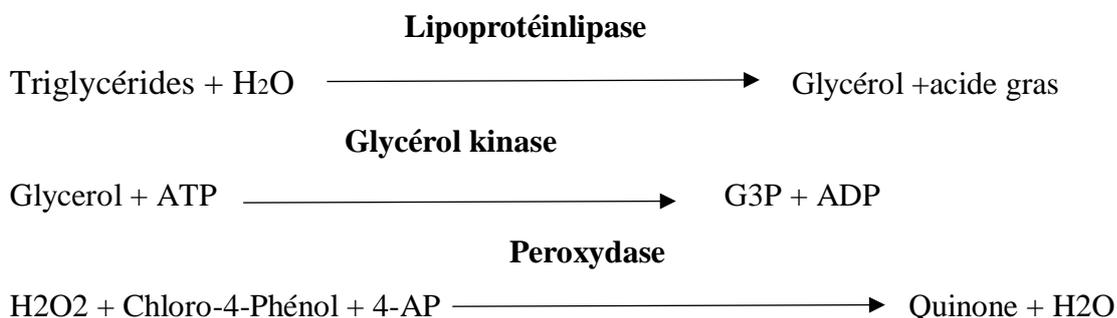
$$\frac{\text{ABS échantillon} - \text{ABS blanc} \times 200 (\text{concentration de l'étalon})}{\text{ABS étalon} - \text{ABS blanc}} = \text{mg/dL de cholestérol}$$

**Facteur de conversion :** mg/dL x 0,0258= mmol/L.

## 2. Triglycérides

L'échantillon de triglycérides incubé avec lipoprotéïnolipase (**LPL**), permet de libérer le glycérol et des acides gras. Le glycérol est transformé en glycérol-3-phosphate (G3P) et adenosine diphosphate (ADP) par le **glycérol kinase (GK)** et l'ATP. Glycérol-3-phosphate (G3P) est ensuite transformé par le glycérol phosphate déshydrogénase (**GPO**) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Dans la dernière réaction, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) réagit avec 4 amino-phénazone (4-AP) et p-chlorophénol en présence de peroxydase (**POD**) pour donner une couleur rouge :



L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la quantité de triglycérides contenue dans l'échantillon du sérum

**R1 :** tampon PH 7.5

**R2 :** enzymes : Lipoprotéïne lipase (LPL) Glycérol kinase (GK) Glycérol-3-oxydase (GPO) Peroxydase(POD) 4 – Aminophénazone (4-AF) ATP.

**R3 :** Triglycérides cal

**Préparation de la solution (RT):** Dissoudre le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 et un flacon de tampon R 1. réactif de travail (RT): Reconstituer le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans 10 mL de tampon R 1. Refermer et agiter doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout. Stabilité du R:: 6 semaine au réfrigérateur (2-8°C) ou une semaine à 15-25°C.

**Tableau N°22 : Protocole du dosage des triglycérides**

|                        | Blanc | Etalon | Echantillon |
|------------------------|-------|--------|-------------|
| RT (ml)                | 1.0   | 1.0    | 1.0         |
| Etalon µl              | --    | 10     | --          |
| Echantillon µl         | --    | --     | 10          |
| Longueur d'onde 550 nm |       |        |             |

.Mélanger et incubé 5 minutes à 37°C ou 10 min à température ambiante.

### 13. Electrophorèse des protéines sérique

L'électrophorèse des protéines sériques permet la séparation des protéines du sang, sous l'influence d'un champ électrique. Elle permet de mettre en évidence des protéines anormales et de détecter une augmentation ou une baisse anormale de protéines dans le sang.

#### Mode opératoire

Le système CAPILLARYS est un instrument multiparamétrique automatique qui assure l'analyse des protéines sériques sur 8 capillaires en parallèle selon les étapes suivantes :

- ✚ Lecture des codes-barres des tubes primaires (jusqu'à 8) et du portoir ;
- ✚ Dilution des échantillons à partir des tubes primaires ;
- ✚ Lavage des capillaires ;
- ✚ Injection des échantillons dilués ;
- ✚ Déparation et détection directe des protéines sur les capillaires.

Les étapes manuelles sont les suivantes :

- ✚ Mise en place des tubes primaires dans les portoirs ; • introduction dans le système CAPILLARYS ;
- ✚ Récupération des portoirs après analyse

Les échantillons de sérum sont utilisés directement sans dilution

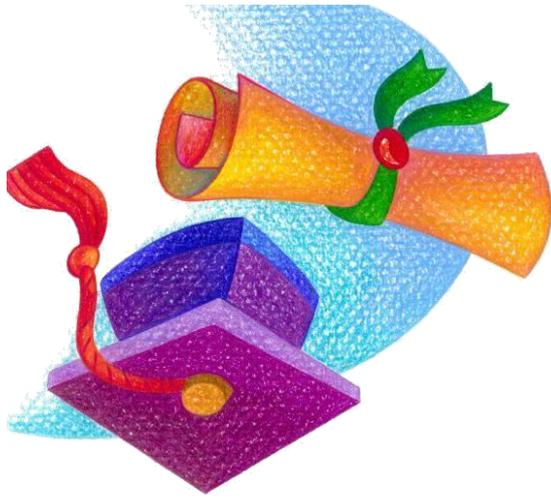
#### ❖ Préparation de l'analyse électrophorétique

- ✚ Mettre CAPILLARYS et l'ordinateur de contrôle sous tension.
- ✚ Démarrer le logiciel, l'automate est alors automatiquement initialisé.
- ✚ Utiliser le kit CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 avec le programme d'analyses "PROTEIN(E) 6". Pour sélectionner le programme d'analyses "PROTEIN(E) 6" et mettre en place le flacon de tampon CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 sur l'appareil,
- ✚ Le portoir possède 8 emplacements pour tubes. Placer jusqu'à 8 tubes primaires sur chaque portoir, en prenant bien soin de laisser le codebarres de chaque tube en face de sa fenêtre de lecture. **IMPORTANT** : Si le nombre de tubes à analyser est inférieur à 8, compléter le portoir par des tubes contenant de l'eau distillée ou déminéralisée.
- ✚ Placer une barrette de dilution neuve sur chaque portoir. En cas d'absence de barrette, le portoir est éjecté. 6. Introduire le (ou les) portoir(s) complet(s) dans le système CAPILLARYS par l'orifice d'entrée situé au milieu de l'appareil. Treize portoirs peuvent être introduits successivement et de nouveaux portoirs pourront être introduits en continu au fur et à mesure des analyses. Lors de l'utilisation d'un sérum de contrôle, utiliser le portoir n° 0 spécifique prévu à cet effet.

- ✚ Retirer du plateau de sortie, situé à gauche de l'appareil, les portoirs dont le contenu des tubes a déjà été analysé.
- ✚ Retirer avec précaution la barrette de dilution usagée et la jeter.
- ❖ **Dilution, migration, description des séquences automatiques**
- ✚ Lecture des codes-barres des tubes primaires d'échantillon et du portoir.
- ✚ Dilution des sérums dans le tampon d'analyse, avec rinçage de l'aiguille de prélèvement entre chaque dilution.
- ✚ Lavage des capillaires.
- ✚ Injection des échantillons dilués dans les capillaires.
- ✚ Migration à voltage constant en température régulée par effet Peltier, pendant environ 4 minutes.
- ✚ Lecture à 200 nm et apparition simultanée du profil protéique sur l'écran de l'ordinateur

#### ❖ **TRAITEMENT DES DONNÉES**

Dès la fin de l'analyse, la quantification relative des fractions est automatiquement effectuée et les profils peuvent être analysés. À partir de la concentration totale en protéines de l'échantillon, il est alors possible de calculer les concentrations de chaque fraction. Les profils électrophorétiques sont analysés visuellement pour détecter les anomalies. Les profils sont présentés par défaut en mode redessiné : ce mode rapproche la fraction alpha-1 du pic d'albumine. En option, le mode standard permet d'afficher la courbe initiale ou courbe brute.



# Chapitre IV

## Résultats et discussions



## I. Profil épidémiologique des patients atteints de myélome multiple

### a) Répartition selon l'âge

L'âge moyen des patients de la série étudiée au moment du diagnostic est de 62 ans avec des extrêmes d'âge allant de 40 et 70 ans, la fréquence la plus élevée a été enregistrée dans la tranche d'âge comprise entre 61 et 70 ans avec 40% des cas.

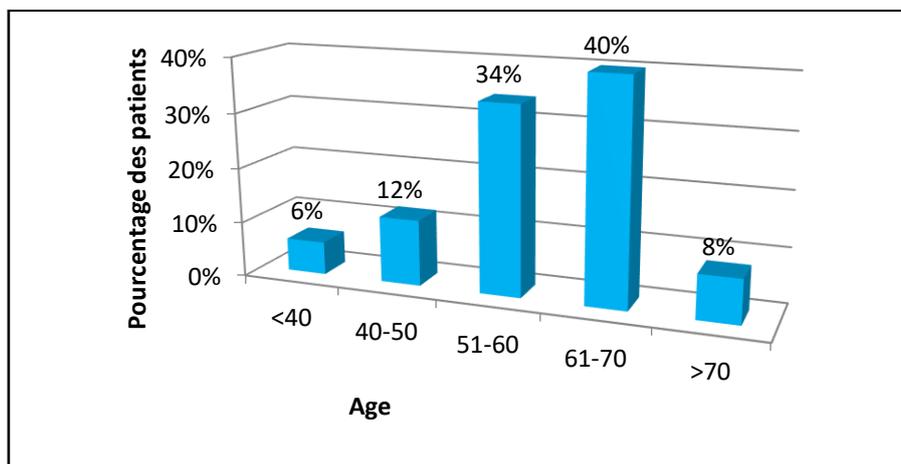


Figure N° 30 : Histogramme représentant la répartition des patients selon l'âge.

### b) Répartition selon le sexe

Notre série comprend 53 sujets de sexe masculin et 47 de sexe féminin, soit respectivement 53% et 47 % de l'ensemble des cas. La sex-ratio globale (H/F) est de 1,13 au profit d'hommes.

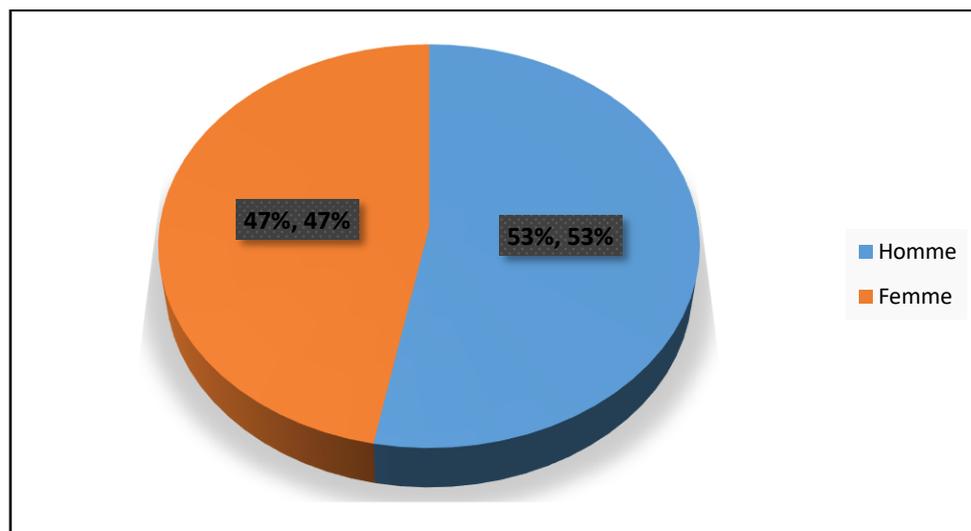
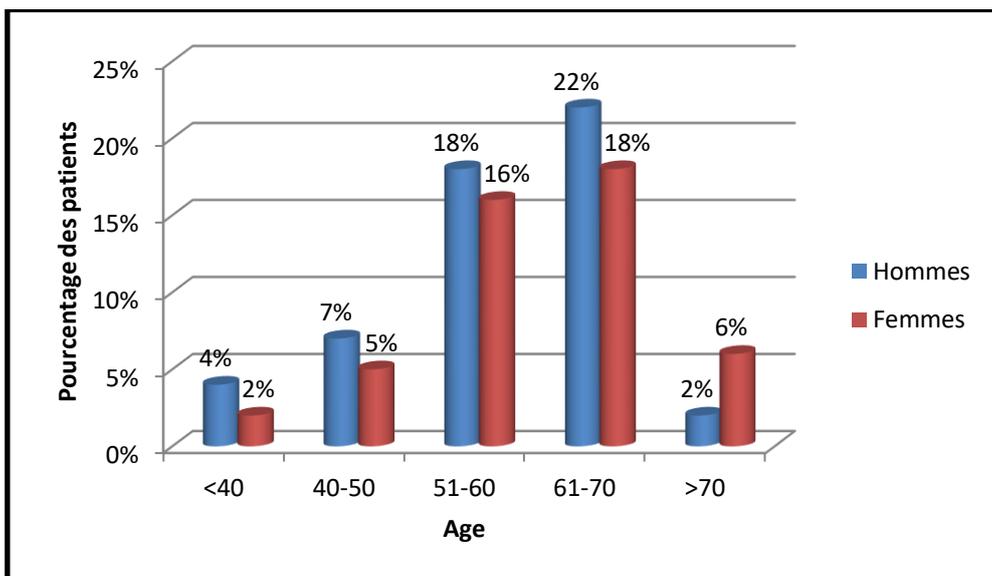


Figure N° 31 : Répartition des patients selon le sexe.

**c) Distribution en fonction du sexe et des tranches d'âge**

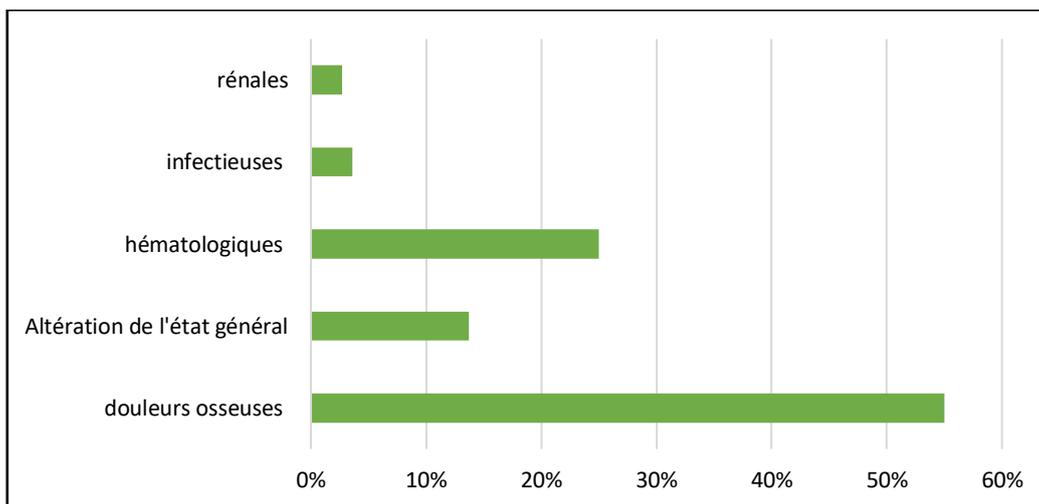


**Figure N° 32 : Histogramme représentant la répartition des patients en fonction du sexe et des tranches d'âge.**

La distribution en fonction du sexe et des tranches d'âges faisait apparaître :

- Un pic de fréquence entre 61-70ans.
- Une prédominance masculine dans les tranches d'âge allant de 29ans à 70ans et une prédominance féminine pour les patients âgées plus de 70ans.

**d) Circonstances de découverte :**



**Figure N°33 : Répartition selon les circonstances de découverte**

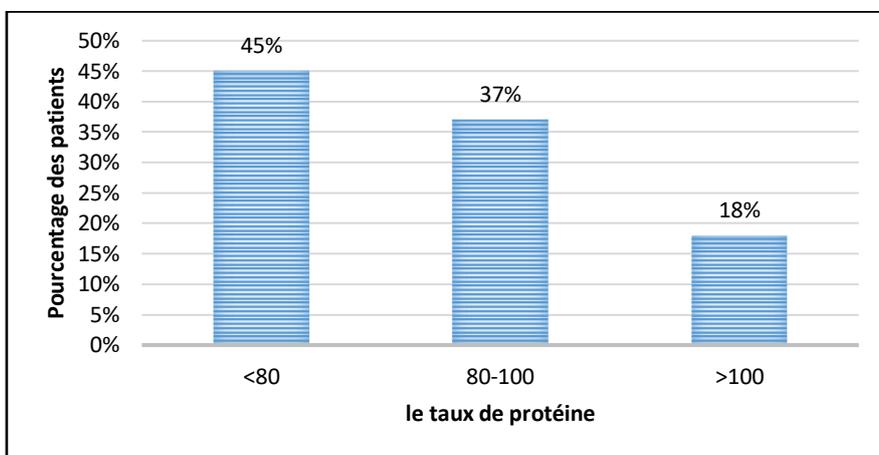
Les douleurs osseuses étaient le principal motif de consultation dans notre étude, elles ont été retrouvées chez 55 cas, soit 55% des cas.

Au moment du diagnostic, 35% (35 cas) des malades présentaient une altération de l'état général dont les signes cardinaux sont : asthénie, anorexie, amaigrissement, fébricule et sueurs vespérales. D'autres part, Les manifestations hématologiques étaient révélatrices chez 40 patients, soit 40%, dominées par le syndrome anémique, représentées essentiellement par la pâleur cutanéomuqueuse et l'asthénie, une dyspnée d'effort et des palpitations.

Le syndrome infectieux a été observé dans 36 cas soit 36%, de localisation différente, représenté essentiellement par les pneumopathies et les infections urinaires

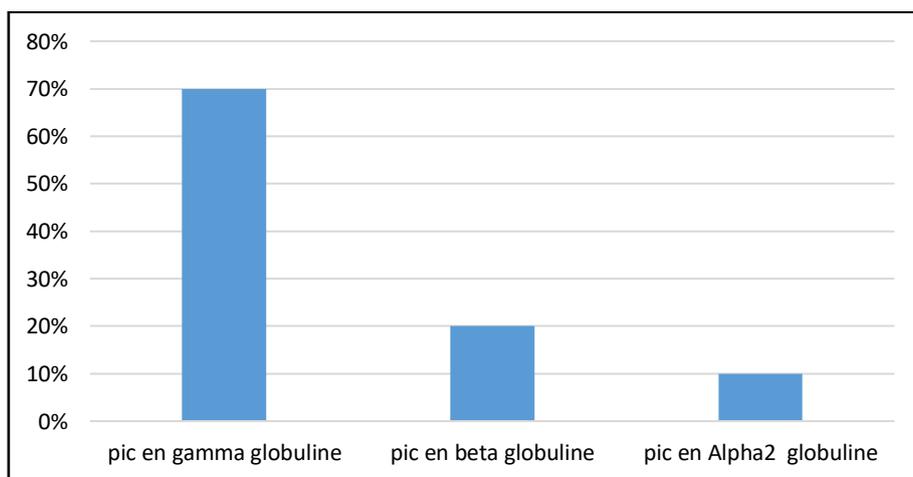
Les manifestations rénales étaient révélatrices chez 27 cas, soit 27% dominées par l'insuffisance rénale.

**e) Protidémie**



**Figure N°34 : Histogramme représentant la répartition des patients selon le taux de la protidémie.**

**f) Électrophorèse des protéines sériques**



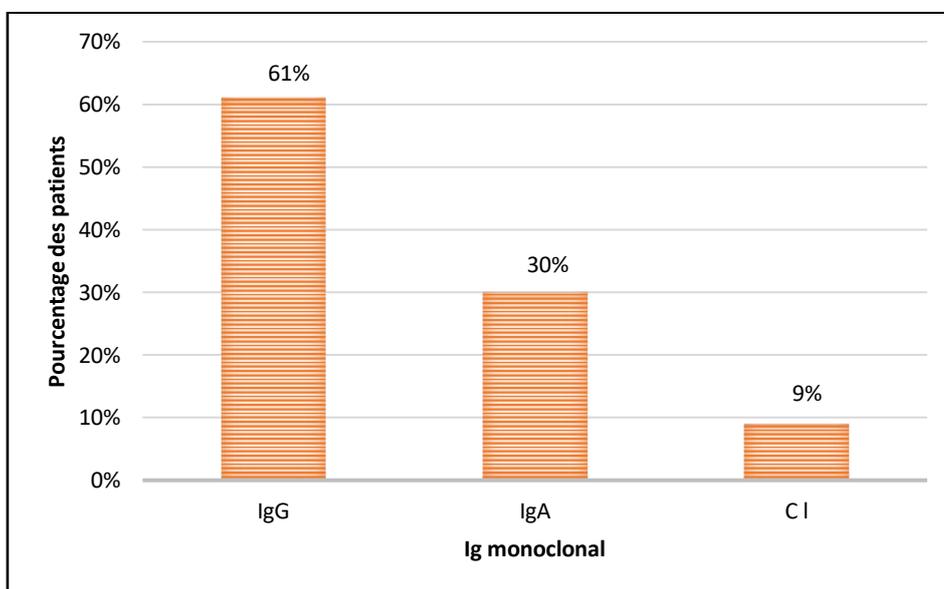
**Figure N° 35 : Histogramme représentant la répartition des patients selon la migration du pic monoclonal en électrophorèses des protéines sérique.**

L'électrophorèse des protides est un examen indispensable au cours du MM qui révèle souvent une hyperprotidémie, surtout lorsque le MM secrète des immunoglobulines entières.

Conformément à la littérature notre étude montre la prédominance des paraprotéines migrant en zone gammaglobuline avec 70% suivi par les paraprotéines migrant en betaglobuline avec 45% et avec 39% des paraprotéines migrant en alpha2-globuline.

#### g) Immunofixation des protéines sériques et urinaires

L'immunofixation précise le caractère monoclonal de la gammopathie et détermine son type immunochimique. Elle précise aussi le déficit en Ig normale associé. Le caractère monoclonal est précisé par l'existence au niveau de la para protéine d'un seul type de chaîne légère Kappa ou Lambda.



**Figure N° 36 : Histogramme représentant la répartition des patients selon l'isotype du myélome multiple.**

On constate que 61% des patients sont de type IgG, 30% de type IgA et 9% de type Chaines légères (CL).

**Tableau N° 23 : Répartition des patients selon le type de chaîne légère.**

| Type de la chaîne légère | Type kappa |     |    | Type lambda |     |    | Rapport kappa/Lambda |
|--------------------------|------------|-----|----|-------------|-----|----|----------------------|
|                          | IgG        | IgA | CL | IgG         | IgA | CL |                      |
| Nombre de cas            | 40         | 22  | 4  | 21          | 8   | 5  | 1.94                 |
| Total                    | 66         |     |    | 34          |     |    |                      |
| Pourcentage(%)           | 66%        |     |    | 34%         |     |    | 1.94%                |

Dans notre série la chaîne légère kappa 66 cas (66%) est plus représentée que la chaîne légère lambda 34 cas (34%) avec un rapport  $\kappa/\lambda$  de 1.94.

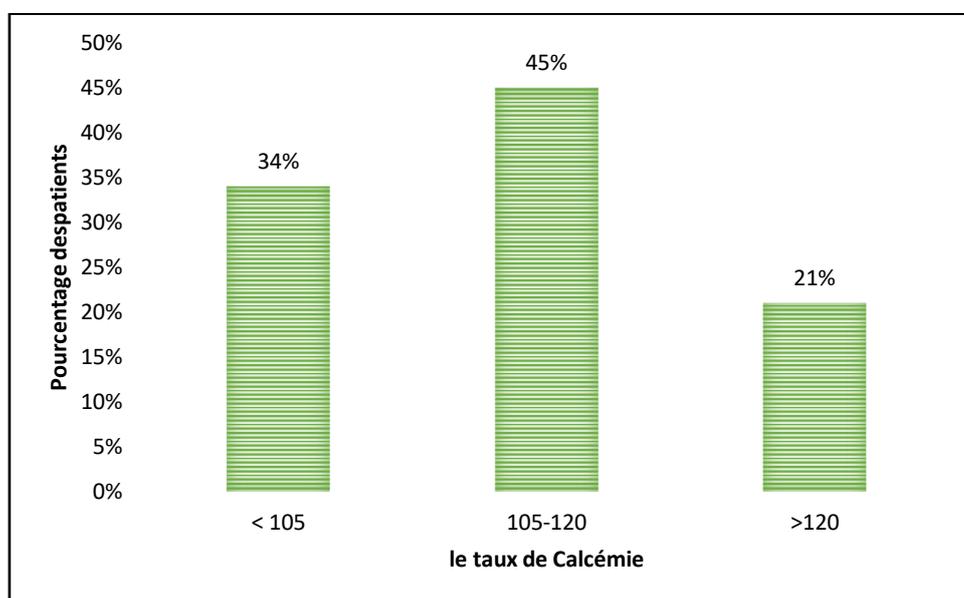
✓ **CL Kappa**

On constate que les patients ayant un IgG Kappa sont en tête de liste avec 40% ensuite IgA Kappa, CL Kappa avec 22% et 4 % des patients.

✓ **CL Lambda**

Les patients ayant un IgG Lambda sont les plus rencontrés avec 21% des cas, ensuite IgA Lambda et CL lambda avec 8% et 5% des patients

**h) Calcémie**

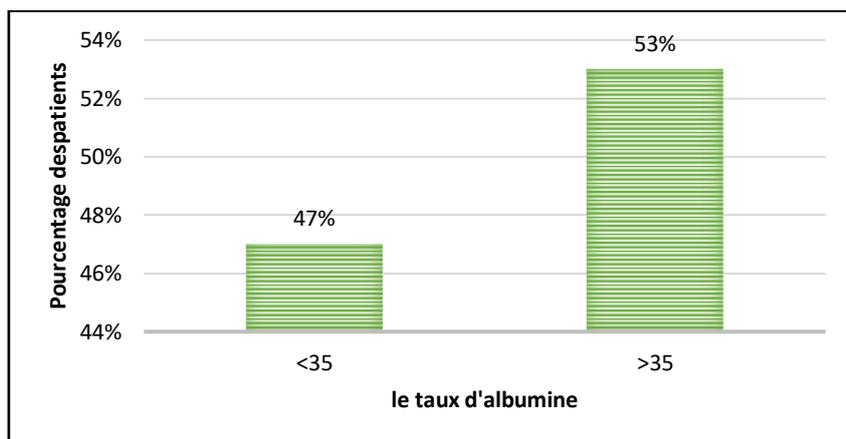


**Figure N° 37 : Répartition des patients selon le taux de la Calcémie**

Le dosage de la calcémie fait partie des examens systématiques dans le bilan initial et la surveillance du MM. Une hypercalcémie est due à l'hyper-résorption ostéoclastique. Le taux de la calcémie est variable, il peut atteindre des chiffres très importants >150mg/l, responsable alors de signes de déshydratation, de troubles neurologiques, cardiaques et rénaux. De ce fait, elle est considérée parmi les causes essentielles de l'insuffisance rénale au cours du MM.

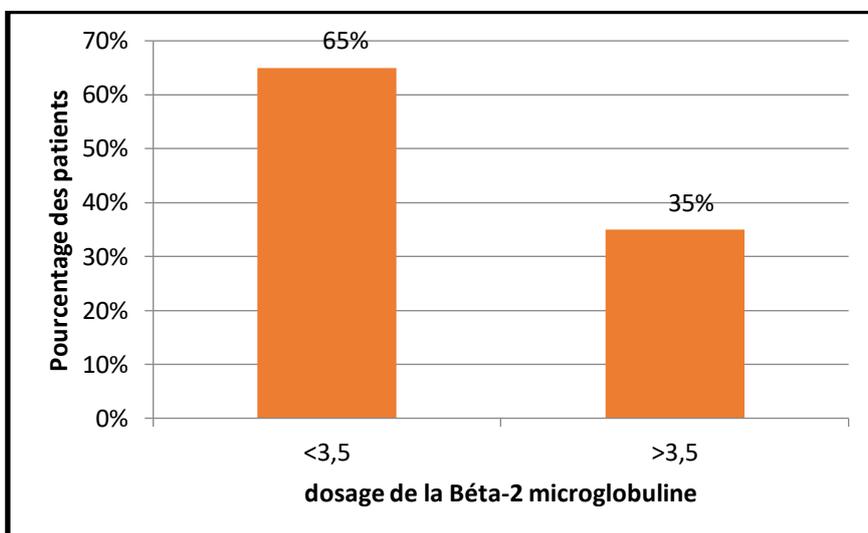
Dans notre étude, l'hypercalcémie a été notée dans 66 cas, soit 66%, dont 21 avaient une hypercalcémie majeure (supérieure à 120mg/l).

**i) Albuminémie**



**Figure N° 38 : Répartition des patients selon le dosage de l'albumine.**

**j) Béta-2 microglobuline**



**Figure N° 39 : répartition des patients selon le dosage de la Béta-2 microglobuline.**

Tous les sujets inclus dans notre étude ont bénéficié du dosage de la bêta-2 microglobuline, une augmentation significative a été trouvée chez 35 patients, soit 35%.

**k) Protéinurie**

**Tableau N° 24 : Répartition des patients en fonction de la protéinurie.**

| Protéinurie     | PU de 24 h (mg/24h) |      | PU de Bence Jones |     |
|-----------------|---------------------|------|-------------------|-----|
|                 | <150                | >150 | +                 | -   |
| Nombre de cas   | 60                  | 40   | 27                | 73  |
| Pourcentage (%) | 60%                 | 40%  | 27%               | 73% |

La protéinurie des 24h ainsi que la protéinurie de Bence Jones (PBJ) urinaire ont été recherchées chez nos patients. La protéinurie était pathologique chez 40 cas soit 40%. La PBJ était positive dans 27 cas soit 27 % des cas, négative dans 73 cas soit 73 %.

#### l) Lactate déshydrogénase (LDH)

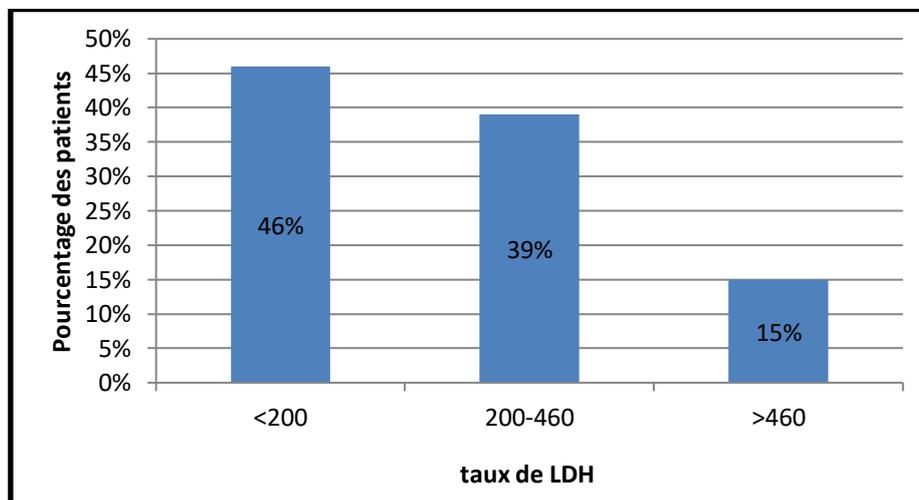


Figure N° 40 : Histogramme représentant la répartition des patients en fonction de la LDH

La LDH était supérieur à 200 chez 54 patients soit 54% dont 15 cas avaient une LDH supérieur à 460 U/L.

#### m) Créatinémie

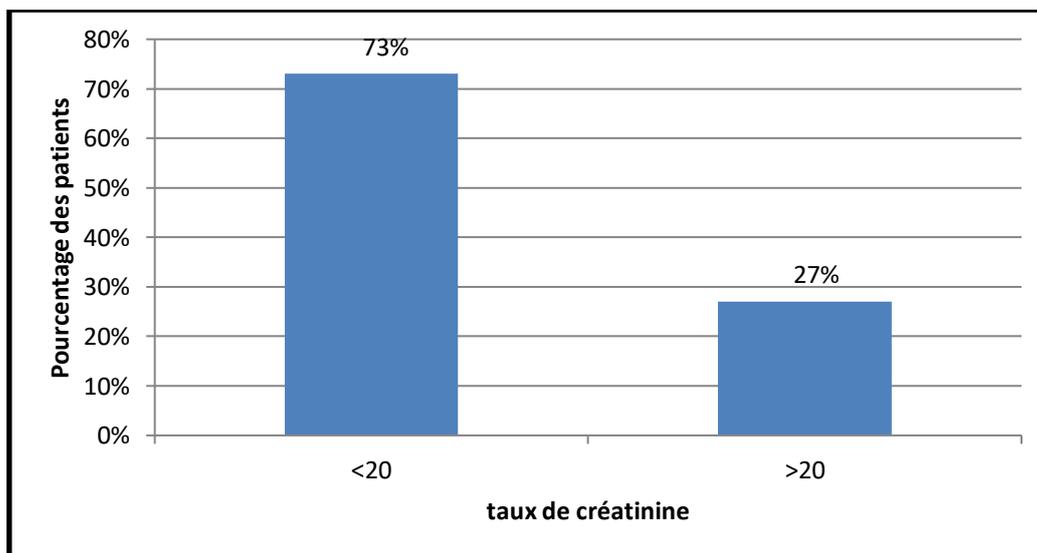
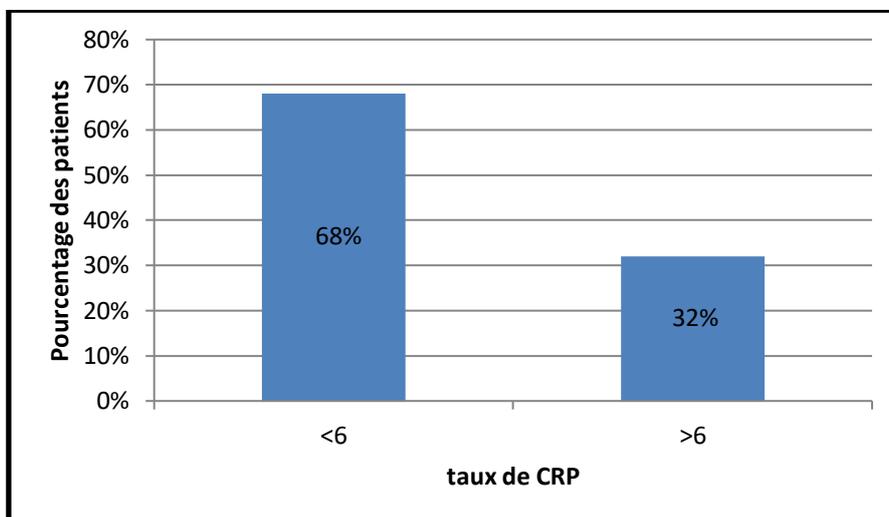


Figure N° 41 : Répartition des patients selon le taux de créatinine

Le dosage de la créatinine est aussi un examen essentiel dans la surveillance du MM. Mesurer le taux de la créatinine dans le sang révèle la qualité de fonctionnement rénale.

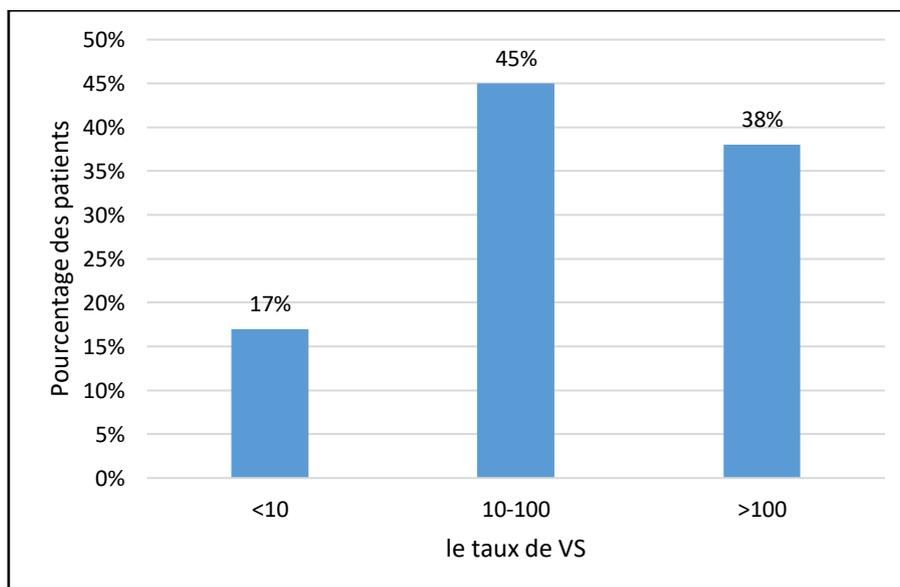
Les personnes atteintes d'un myélome multiple ont un taux de créatinine élevé présentent un pronostic plus sombre. Dans notre étude 27% des patients ont un taux élevé de la créatinine (supérieure à 20mg/l), ce qui signifie un mauvais fonctionnement rénal.

**n) Protéine C réactive (CRP)**



**Figure N° 42 : Répartition des patients selon le taux de CRP**

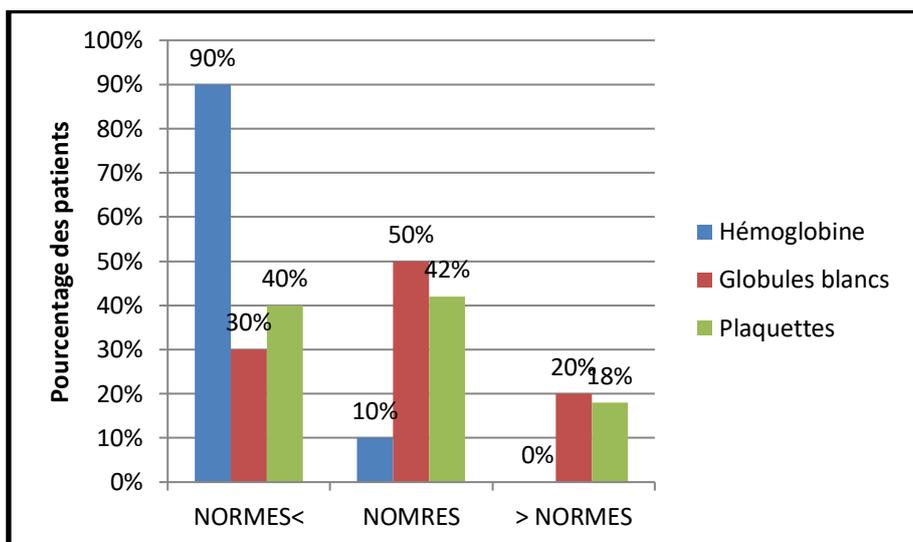
**o) Vitesse de sédimentation (VS)**



**Figure N° 43 : Histogramme représentant la répartition des patients selon le taux de la VS (mm a la 1ère heure).**

La VS à la 1 ère heure était accélérée chez 83% des cas.

**p) Formule de la numération sanguine (FNS)**

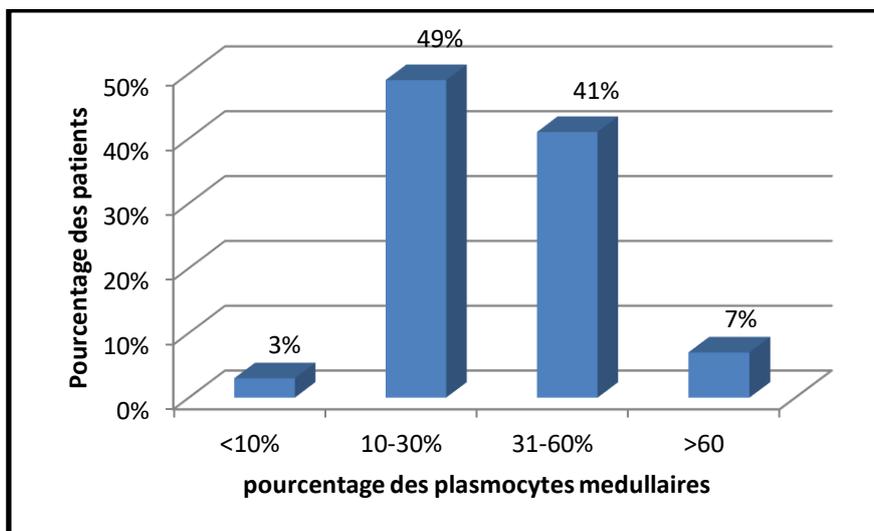


**Figure N° 44 : Histogramme représentant les taux d'Hb, GB, PLQ chez les patients atteints de MM**

On remarque que le nombre des patients ayant un taux d’hémoglobine (Hb) inférieur aux normes est trop élevé (soit 90% des cas) et ils développent une anémie normochrome normocytaire. D’autre part, La leucopénie a été notée chez 40% des cas par contre l’hyperleucocytose a été notée chez 20 % des cas. La thrombopénie a été retrouvée chez 40% des cas.

**q) Myélogramme**

Le myélogramme permet l’évaluation quantitative et qualitative de la plasmocytose médullaire et ça représente une étape décisive de la démarche diagnostic d’un myélome multiple.



**Figure N°45 : Répartition des patients selon le pourcentage des plasmocytes médullaire.**

Le myélogramme a été réalisé chez tous nos patients. Il a montré que 97% des patients ont une richesse cellulaire des plasmocytes médullaires anormale. La plupart sont dystrophique dont l'infiltration des plasmocytes est de 10 à 30 % retrouvé chez 49% des cas et entre 30 à 60% chez 41% des cas. 7% entre eux ont une richesse normale.

## II. Etude épidémiologique sur la place de l'autogreffe dans la prise en charge des patients atteints de Myélome multiple

### a. Répartition selon le sexe

La figure N°46 représente la répartition selon le sexe. Une prédominance masculine est retrouvée dans notre série en effet sur 319 patients nous avons 195 hommes avec un pourcentage de 61% et 124 femmes avec un pourcentage de 39%.

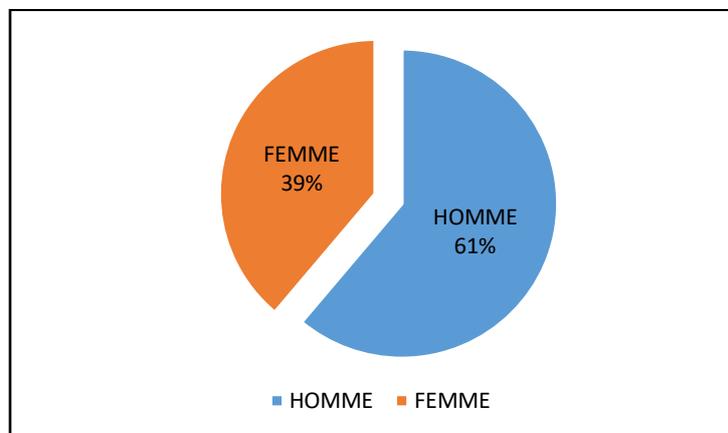


Figure N° 46 : Répartition des patients selon le sexe

### b. Répartition selon l'âge

La répartition des patients atteints de myélome multiple ayant subi une autogreffe est représentée sur la figure N°47. L'âge moyen est de 53 ans avec des extrêmes allant de 27ans à 72 ans, la répartition des patients retrouve un pic dans la tranche d'âge 46-60 ans.

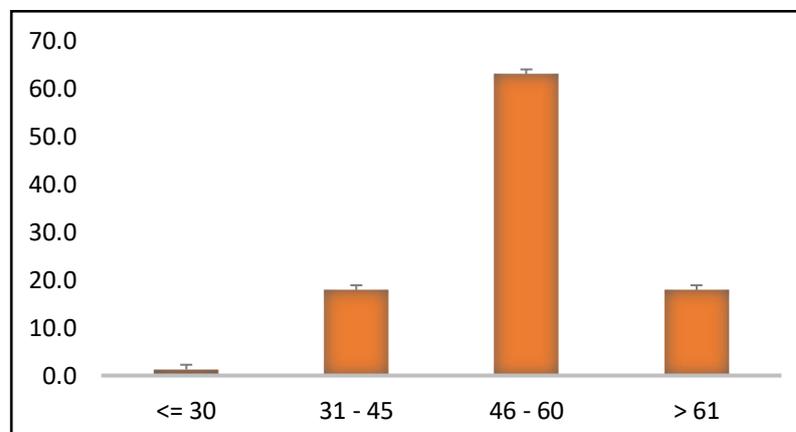


Figure N° 47 : Répartition selon l'âge

**c. Répartition selon le statut post greffe 1 et statut à 100 jours**

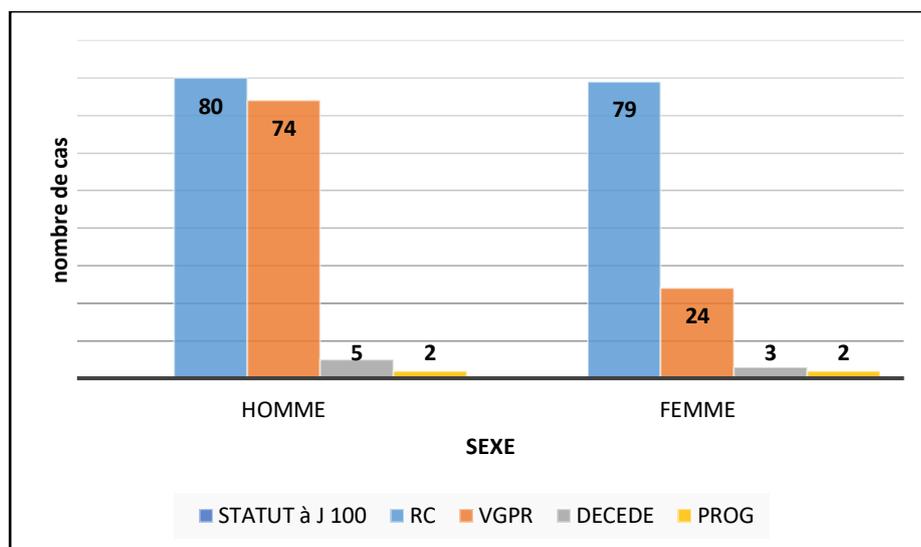
Le tableau suivant représente la répartition des patients des selon le statut post greffe 1 et le statut après 100 jours, dans notre étude la majorité des patients sont dans un état de réponse complète pour les deux statuts et rechute pour le statut post greffe 1 (30.1%).

**Tableau N° 25 : Répartition selon le statut post greffe 1 et statut à 100 jours**

| Statut               | Etat du patient    | Pourcentage % |
|----------------------|--------------------|---------------|
| Statut post greffe 1 | RC                 | 32            |
|                      | Rechute            | 30.1          |
|                      | Décédé             | 3.1           |
|                      | VGPR               | 11            |
|                      | Rechute biologique | 1.3           |
|                      | Progression        | 1.9           |
|                      | Perdu de vue       | 20.6          |
| Statut à 100 jours   | RC                 | 49.5          |
|                      | VGPR               | 30.7          |
|                      | Décédé             | 2.5           |
|                      | Progression        | 1.3           |
|                      | Perdue de vue      | 16            |

**d. Influence du sexe sur le statut à 100 jours**

La figure suivante représente la corrélation entre le sexe et le statut à 100 jours, nous avons utilisé le test de Khi-deux. Les résultats obtenus sont très significatif avec  $p < 0.01$ .

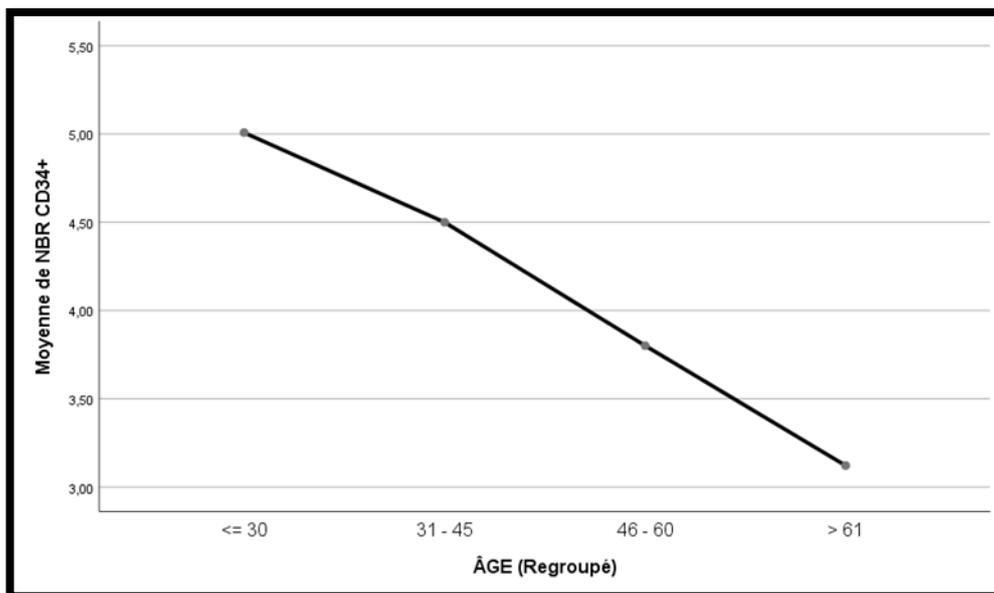


**Figure N° 48 : Corrélation entre sexe et statut à 100 jours**

RC : Réponse complète, VGPR : Réduction du composant monoclonale inférieure à 90%, PROG : Progression.

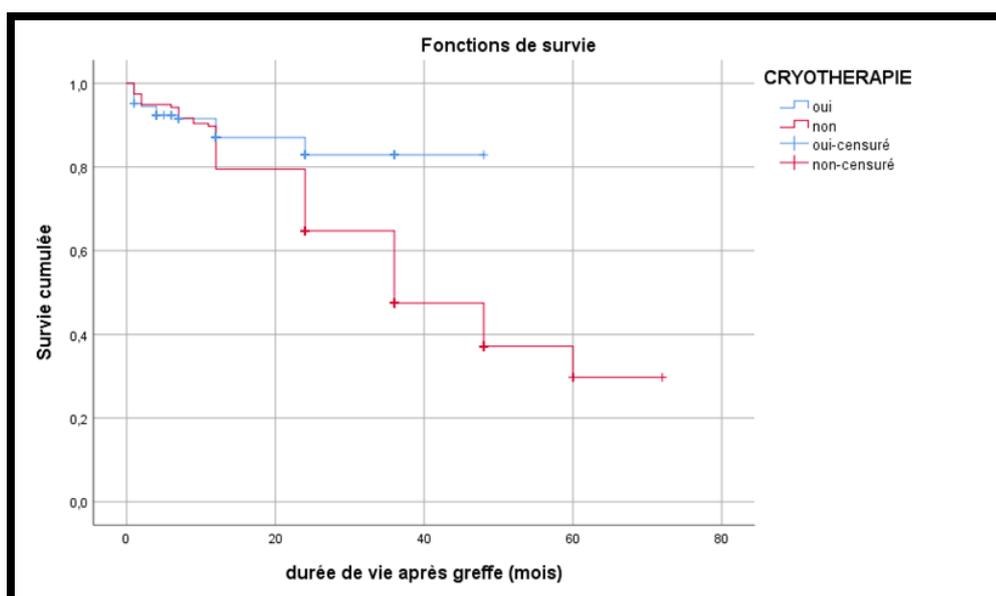
**e. Influence de l'âge sur le nombre de CD34+**

Le nombre de cellules souches CD34+ pour l'autogreffe est très important car celles-ci vont être prélevées et congelées ensuite réinjectées aux patients à condition que leur nombre soit en quantité très importante. Les résultats obtenus sont très significatif avec un  $p < 0.01$  et montrent que le nombre de ces cellules diminue avec l'augmentation de l'âge.



**Figure N° 49 : Corrélation entre l'âge et le nombre de CD34+**

**f. Influence de la cryothérapie sur la durée de vie**



**Figure N° 50 : Corrélation entre durée de vie et cryothérapie**

La figure N°50 représente la corrélation entre la cryothérapie et la durée de vie, les résultats obtenus sont hautement significatif avec un  $p < 0.0001$ .

**g. Influence de l'âge et le sexe sur la durée de vie**

La figure ci-dessous représente l'évaluation de la durée de vie après l'autogreffe des cellules souches hématopoïétiques. L'analyse des données montre une survie globale de cinq ans.

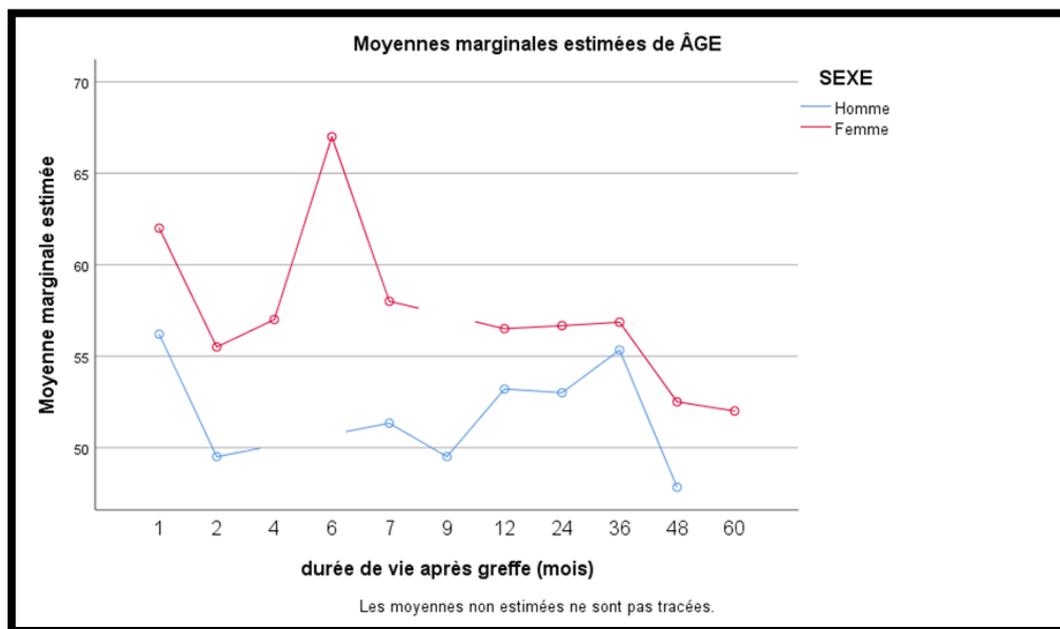


Figure N° 51 : Durée de vie entre l'âge et le sexe

**III. Enquête ethnobotanique sur l'utilisation de pissenlit dans la région Ouest d'Algérie**

**a. connaissance de la plante**



Figure N° 52 : Distribution selon la connaissance de la plante

### **b. Description de la population questionnée**

L'utilisation de pissenlit est répandue chez toutes les tranches d'âge avec un pic pour les personnes âgées entre 20 et 40 ans, l'âge moyen est de 42 ans avec des extrêmes allant de 20 ans à 89 ans. Par contre chez les personnes âgées de plus de 65 ans l'utilisation de la plante est très réduite. Les hommes et les femmes ont été concernés par cette enquête en effet 56% des personnes questionnés sont des femmes tandis que 44% sont des hommes (Tableau N°26).

Par ailleurs, l'analyse des données montre que la majorité des personnes utilisatrices de la plante sont des universitaires avec un pourcentage de 45.8% viennent ensuite les niveaux secondaire, primaire et analphabète avec un faible pourcentage de 4%.

L'utilisation de la plante est plus répandue chez les citadins avec un pourcentage de 71% contre 29% des personnes villageois. Nos résultats montrent que la plante est beaucoup plus utilisée par les personnes mariées avec un pourcentage de 73% tandis que 27% personnes sont célibataires.

**Tableau N° 26 : répartition de la population questionnée**

| <b>Paramètre</b>                                | <b>Variables</b>      | <b>N</b>   | <b>%</b>    |
|---|-----------------------|------------|-------------|
| <b>Age</b>                                      | <b>20 à 40 ans</b>    | <b>483</b> | <b>48,3</b> |
|   | <b>40 à 60 ans</b>    | <b>351</b> | <b>35,1</b> |
|   | <b>Plus de 60 ans</b> | <b>166</b> | <b>16,6</b> |
| <b>Sexe</b>                                     | <b>Femme</b>          | <b>560</b> | <b>56</b>   |
|   | <b>Homme</b>          | <b>440</b> | <b>44</b>   |
| <b>Niveau d'éducation</b>                       | <b>Sans niveau</b>    | <b>40</b>  | <b>4,0</b>  |
|   | <b>Primaire</b>       | <b>163</b> | <b>16,3</b> |
|   | <b>Secondaire</b>     | <b>338</b> | <b>33,8</b> |
|   | <b>Universitaire</b>  | <b>458</b> | <b>45,8</b> |
| <b>Lieu de résidence</b>                        | <b>Ville</b>          | <b>710</b> | <b>71</b>   |
|   | <b>Village</b>        | <b>290</b> | <b>29</b>   |
| <b>Répartition selon la situation familiale</b> | <b>Célibataire</b>    | <b>270</b> | <b>27</b>   |
|   | <b>Marié</b>          | <b>730</b> | <b>73</b>   |

Dans notre région d'étude plus de 50% des personnes préfèrent la médecine traditionnelle ainsi que les femmes sont plus concernées par la médecine alternative avec un pourcentage de 51% (figure N°53). La plante est beaucoup plus utilisée dans la médecine et peu utilisée dans le domaine industriel et cosmétique en effet la majorité des études portent sur les différents effets thérapeutiques (figure N°54).

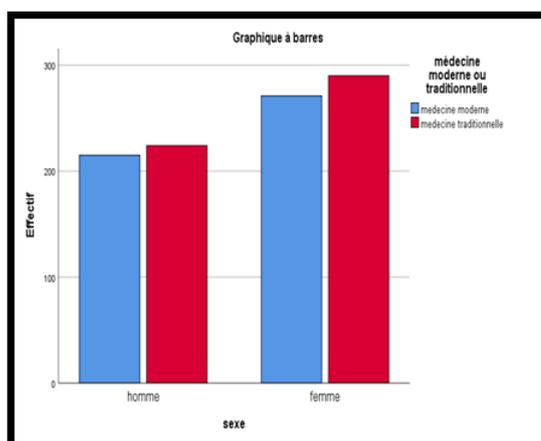


Figure N°53 : répartition des fréquences entre médecine moderne et traditionnelle

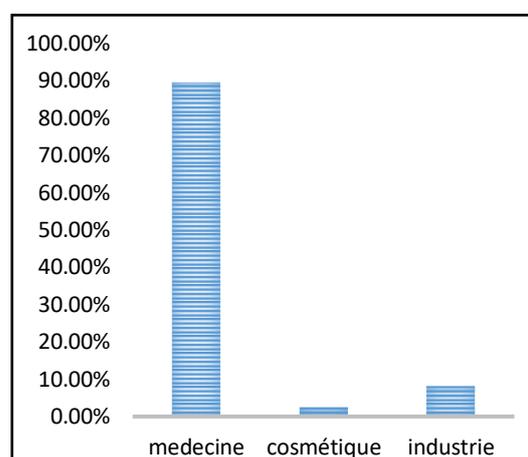


Figure N°54 : Répartition selon le domaine d'utilisation

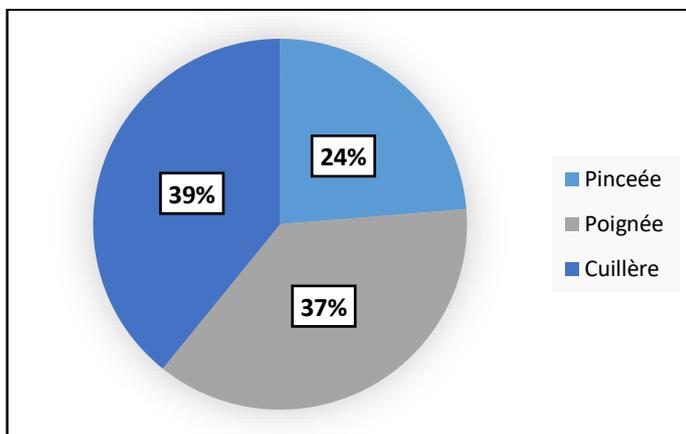
### c. Description du mode d'utilisation de la plante

Tableau N° 27 : Répartition selon le mode d'utilisation

|                            |                   | Nombre     |            |             | Pourcentage % |           |             |
|----------------------------|-------------------|------------|------------|-------------|---------------|-----------|-------------|
|                            |                   | Oui        | Non        | Non répandu | Oui           | Non       | Non répandu |
| <b>Partie utilisée</b>     | <b>Fleur</b>      | <b>313</b> | <b>110</b> | <b>573</b>  | <b>31</b>     | <b>11</b> | <b>58</b>   |
|                            | <b>Racine</b>     | <b>273</b> | <b>160</b> | <b>567</b>  | <b>27</b>     | <b>16</b> | <b>57</b>   |
|                            | <b>Graine</b>     | <b>189</b> | <b>233</b> | <b>578</b>  | <b>19</b>     | <b>23</b> | <b>58</b>   |
| <b>Etat de la plante</b>   | <b>Fraiche</b>    | <b>212</b> | <b>149</b> | <b>839</b>  | <b>21</b>     | <b>15</b> | <b>64</b>   |
|                            | <b>Sèche</b>      | <b>293</b> | <b>151</b> | <b>550</b>  | <b>29</b>     | <b>16</b> | <b>55</b>   |
| <b>Mode de préparation</b> | <b>Infusion</b>   | <b>230</b> | <b>130</b> | <b>640</b>  | <b>23</b>     | <b>13</b> | <b>64</b>   |
|                            | <b>Macération</b> | <b>111</b> | <b>248</b> | <b>641</b>  | <b>11</b>     | <b>25</b> | <b>65</b>   |
|                            | <b>Cataplasme</b> | <b>89</b>  | <b>271</b> | <b>640</b>  | <b>9</b>      | <b>27</b> | <b>64</b>   |
|                            | <b>Décoction</b>  | <b>111</b> | <b>245</b> | <b>644</b>  | <b>11</b>     | <b>25</b> | <b>64</b>   |
|                            | <b>Autre</b>      | <b>149</b> | <b>269</b> | <b>582</b>  | <b>15</b>     | <b>27</b> | <b>58</b>   |

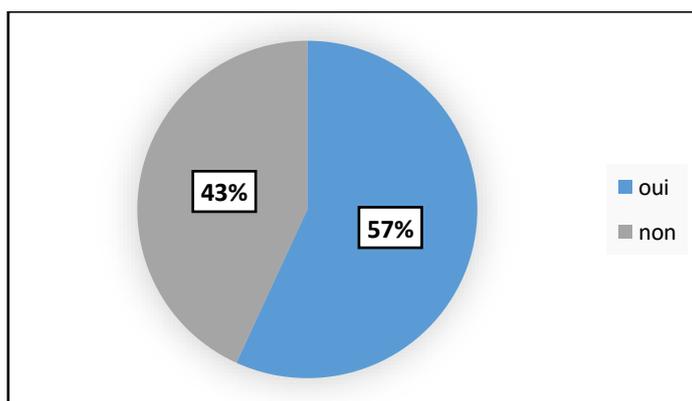
|                              |                       |            |            |            |           |           |           |
|------------------------------|-----------------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Mode d'administration</b> | <b>Orale</b>          | <b>281</b> | <b>79</b>  | <b>640</b> | <b>28</b> | <b>08</b> | <b>64</b> |
|                              | <b>Inhalation</b>     | <b>37</b>  | <b>323</b> | <b>640</b> | <b>4</b>  | <b>32</b> | <b>64</b> |
|                              | <b>Autre</b>          | <b>201</b> | <b>244</b> | <b>555</b> | <b>20</b> | <b>24</b> | <b>56</b> |
| <b>Pathologies traitées</b>  | <b>Dermatologique</b> | <b>119</b> | <b>238</b> | <b>563</b> | <b>12</b> | <b>24</b> | <b>56</b> |
|                              | <b>Rénal</b>          | <b>114</b> | <b>245</b> | <b>641</b> | <b>11</b> | <b>25</b> | <b>64</b> |
|                              | <b>Respiratoire</b>   | <b>75</b>  | <b>284</b> | <b>680</b> | <b>8</b>  | <b>28</b> | <b>68</b> |
|                              | <b>Hématologique</b>  | <b>219</b> | <b>139</b> | <b>642</b> | <b>22</b> | <b>14</b> | <b>64</b> |
|                              | <b>Métabolique</b>    | <b>96</b>  | <b>262</b> | <b>642</b> | <b>10</b> | <b>26</b> | <b>64</b> |
|                              | <b>Gastrique</b>      | <b>194</b> | <b>176</b> | <b>630</b> | <b>19</b> | <b>18</b> | <b>64</b> |

**d. Répartition selon la posologie**



**Figure N° 55 : Distribution selon la posologie utilisée**

**e. Répartition selon les effets secondaires**



**Figure N° 56 : Répartition selon les effets secondaires**

### f. Efficacité de la plante

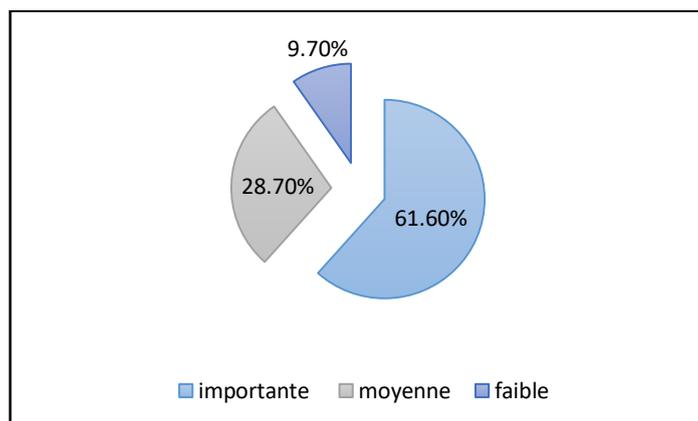


Figure N°57 : Répartition selon l'efficacité de la plante

## IV. Caractérisation de la plante

### a. Rendement d'extraction

Tableau N°28 : Rendement d'extraction éthanolique

| Extrait  | Rendement % |
|----------|-------------|
| Feuilles | 31          |
| Racines  | 26          |

### b. Screening phytochimique

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les différents extraits éthanolique de pissenlit sont regroupés dans le tableau N° 30 et le tableau N° 31. Ces résultats sont basés sur des phénomènes de coloration ou bien de précipitation, la teneur de la substance recherchée et proportionnelle à l'intensité du précipité et à la coloration.

Tableau N° 29 : Screening phytochimique des racines

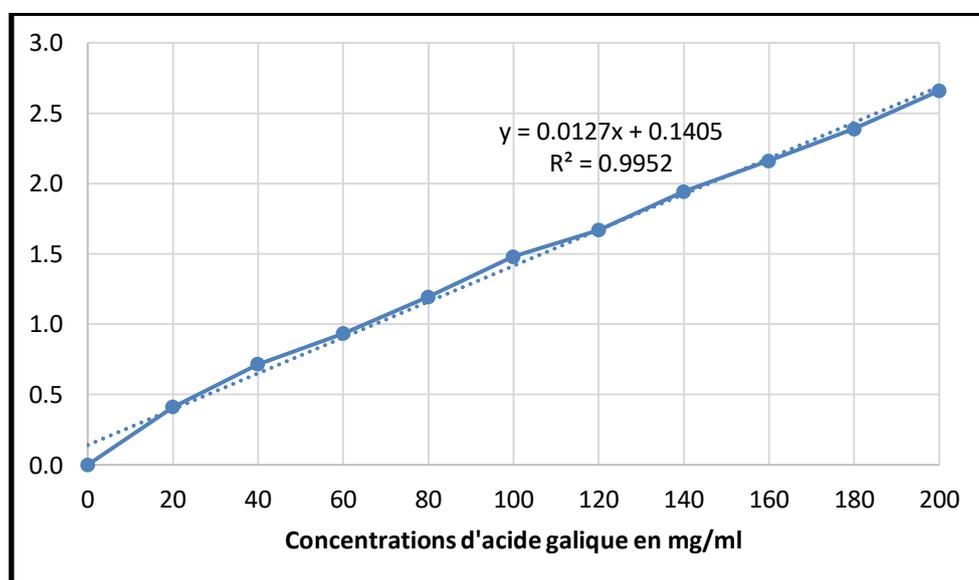
| Paramètre      | Positif (+) | Négatif (-) |
|----------------|-------------|-------------|
| Alcaloïdes     | +           |             |
| Flavonoïdes    | +           |             |
| Terpenoïdes    | +           |             |
| Stéroïdes      | +           |             |
| Tanins         | +           |             |
| Saponosides    | +           | -           |
| Quinones       |             | -           |
| Anthraquinones |             | -           |

**Tableau N° 30 : Screening phytochimique des feuilles**

| Paramètre      | Positif (+) | Négatif (-) |
|----------------|-------------|-------------|
| Alcaloïdes     |             | -           |
| Flavonoïdes    | +           |             |
| Terpenoïdes    | +           |             |
| Stéroïdes      | +           |             |
| Tanins         | +           |             |
| Saponosides    | +           |             |
| Quinones       | +           |             |
| Anthraquinones | +           |             |

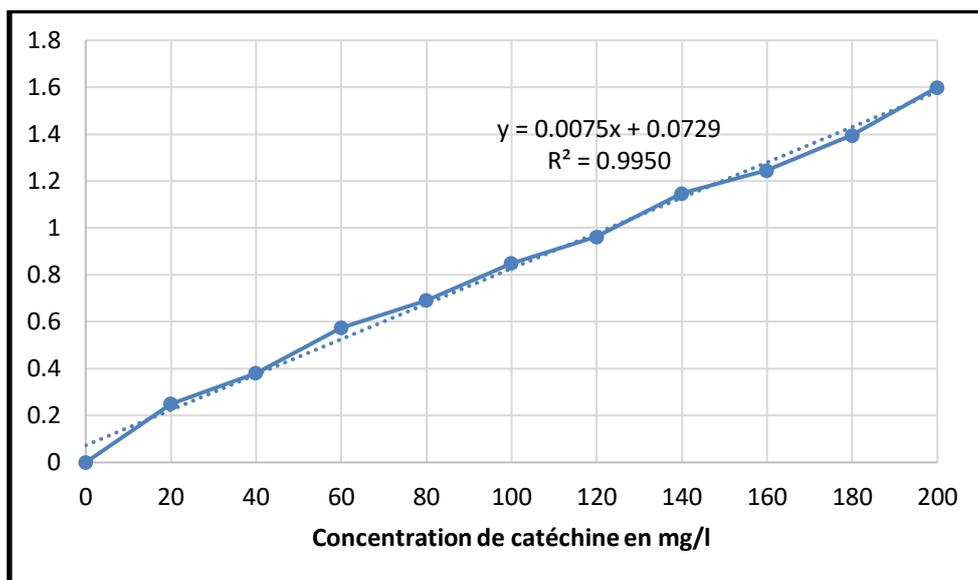
### c. Dosage des phénols totaux

La quantification des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins a été déterminée à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage exprimé successivement en mg équivalent d'acide gallique et mg équivalent de catéchine par g de la matière sèche. Les courbes d'étalonnages ont été réalisées à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les extraits.

**Figure N° 58 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique**

L'extrait de feuilles possède une teneur plus élevée en phénols totaux par rapport à l'extrait de racines. Cependant la teneur en phénols totaux est de 53.56 mg/AGA dans les feuilles et 39.65 mg AGA/ ml E dans les racines.

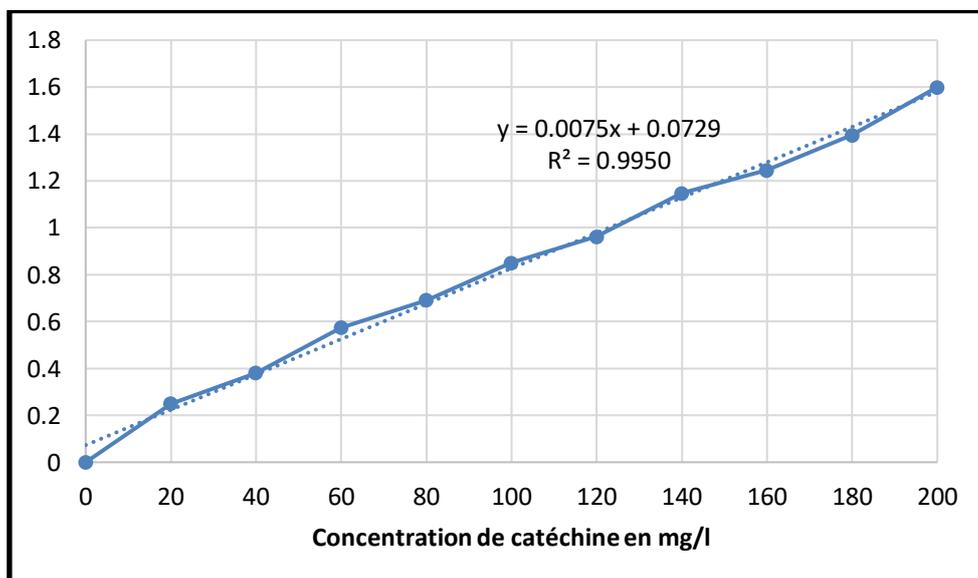
#### d. Dosage des flavonoïdes



**Figure N° 59 : Courbe d'étalonnage de la catéchine**

La teneur en flavonoïdes dans les feuilles est 100.81 catéchine/ mL par contre elle faible dans les racines avec un taux de 50.15 mg catéchine/ mL.

#### e. Dosage des tanins condensés



**Figure N° 60 : Courbe d'étalonnage de la catéchine**

La quantité des tanins observés dans les feuilles égale à 227.95 mg/catechine et celle des racines égale à 233.88.

**f. Evaluation de l'activité antioxydante (DPPH)**

**Racines**

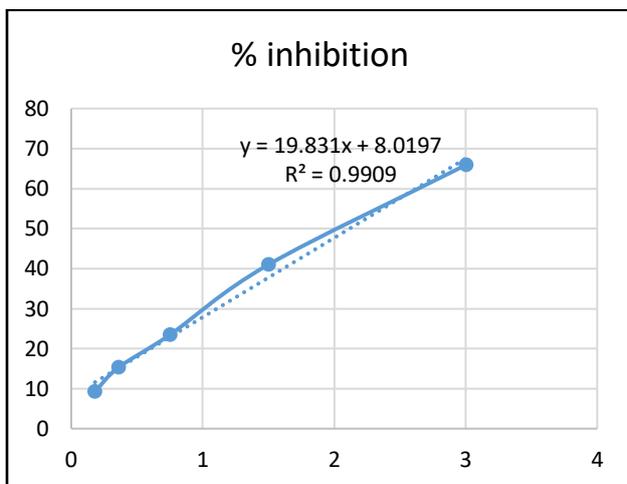


Figure N°61 : Dosage DPPH extrait de racines

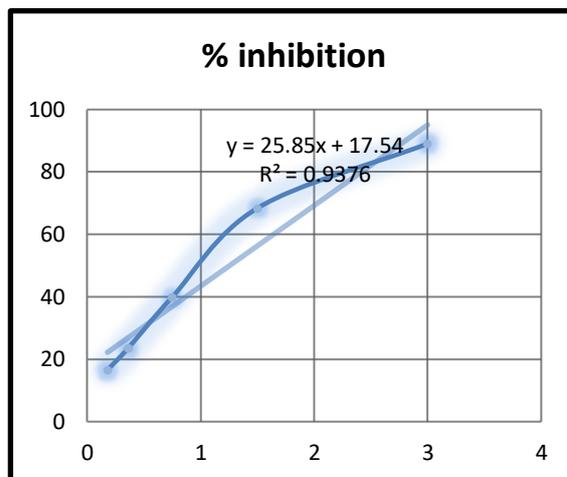


Figure N° 62 : Dosage DPPH extrait de feuilles

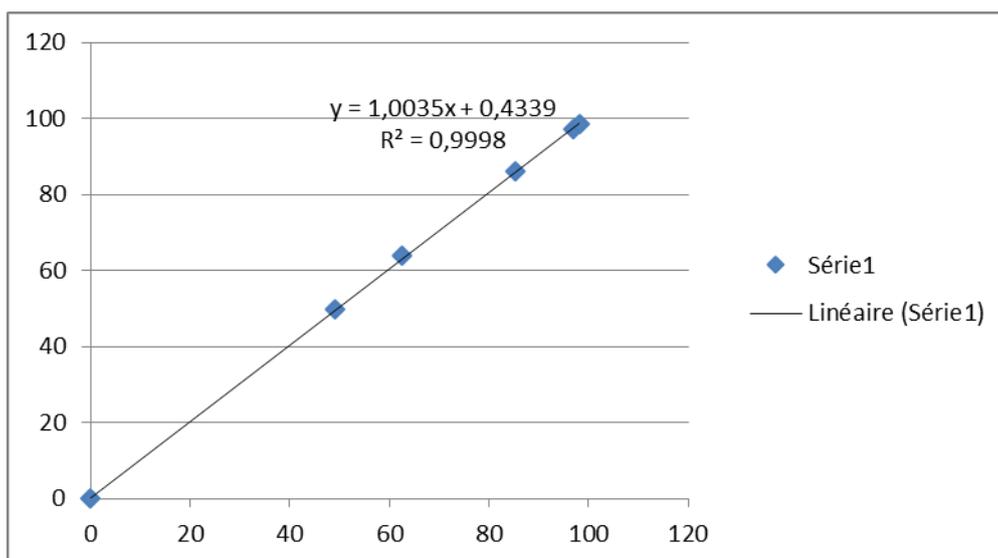


Figure N° 63 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

**Tableau N° 31 : Activité antioxydante des extraits éthanolique des feuilles et des racines de pissenlit**

| Matériel végétal | IC 50      |
|------------------|------------|
| Feuilles         | 2.12 mg/ml |
| Racines          | 1.25 mg/ml |
| Acide ascorbique | 0.13 mg/ml |

Les résultats obtenus par le test DPPH montrent que les extraits éthanolique de feuilles et de racines de pissenlit possèdent un pouvoir antioxydant important. Cependant cette

activité antioxydante est confirmée par une faible valeur IC50 qui varie entre 1.25 mg/ml et 2.12 mg/ml.

### g. Spectrophotométrie d'absorption Atomique (SAA)

#### i. Zinc

Tableau N°33 : Evaluation du taux de zinc dans l'extrait de racines de pissenlit

| Echantillon                     | Absorbance | Concentration (ppm) |
|---------------------------------|------------|---------------------|
| Extrait de racines de pissenlit | 0.1896     | 0.1172              |

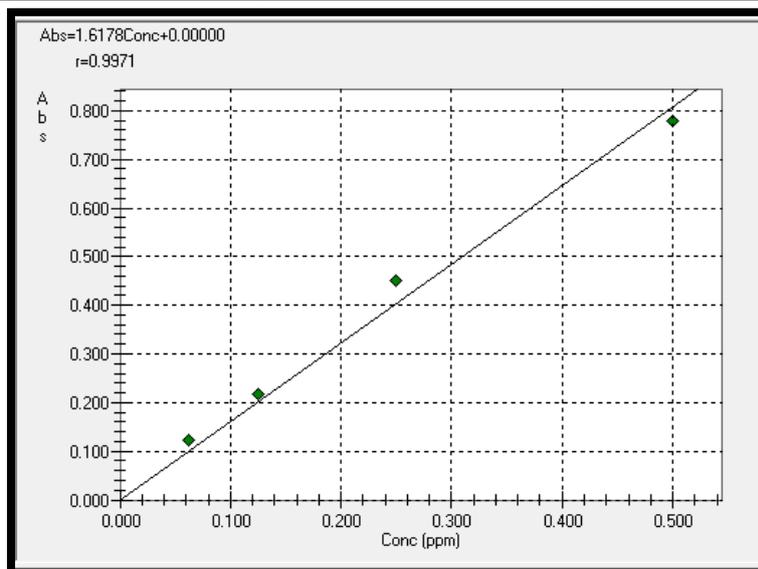


Figure N° 64: Courbe d'étalonnage du zinc

#### ii. Calcium

Tableau N°32 : Evaluation du taux de calcium dans l'extrait de racines de pissenlit

| Echantillon                     | Absorbance | Concentration (ppm) |
|---------------------------------|------------|---------------------|
| Extrait de racines de pissenlit | 0.4221     | 22.1734             |

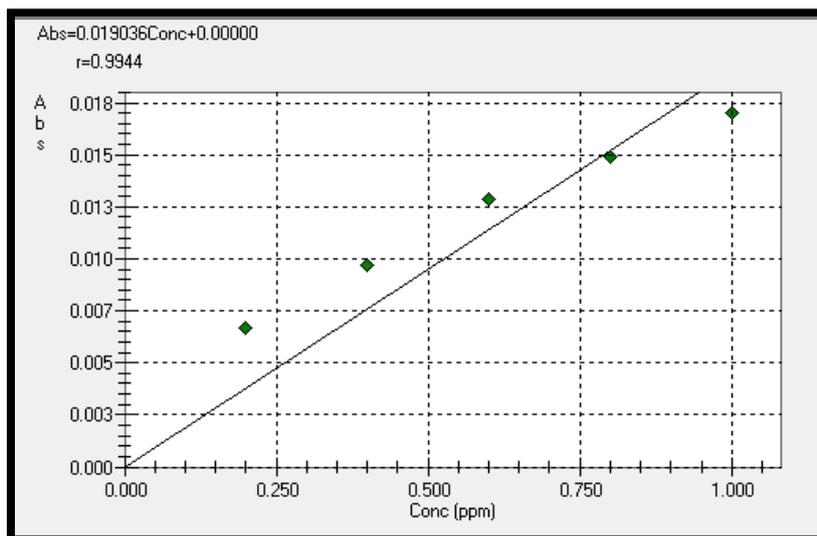


Figure N° 65 : Courbe d'étalonnage du calcium

iii. Manganèse

Tableau N°34 : Evaluation du taux de manganèse dans l'extrait de racines de pissenlit

| Echantillon                     | Absorbance | Concentration (ppm) |
|---------------------------------|------------|---------------------|
| Extrait de racines de pissenlit | 0.0451     | 0.1119              |

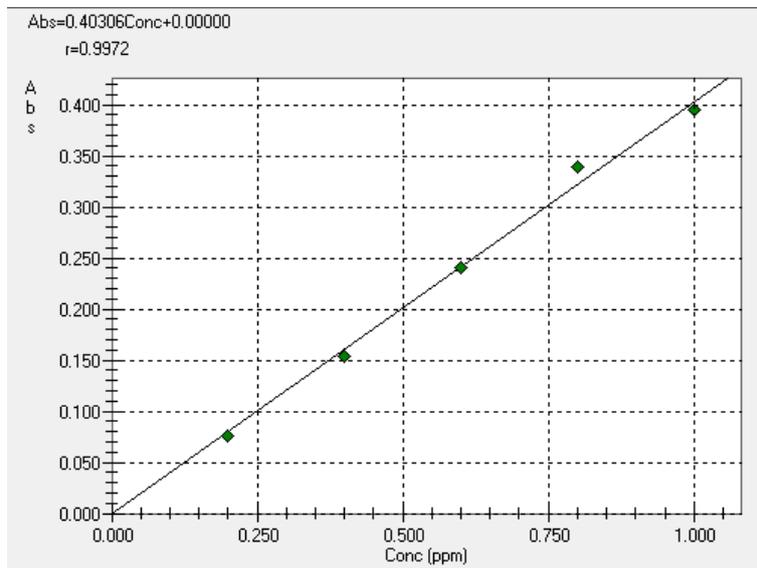
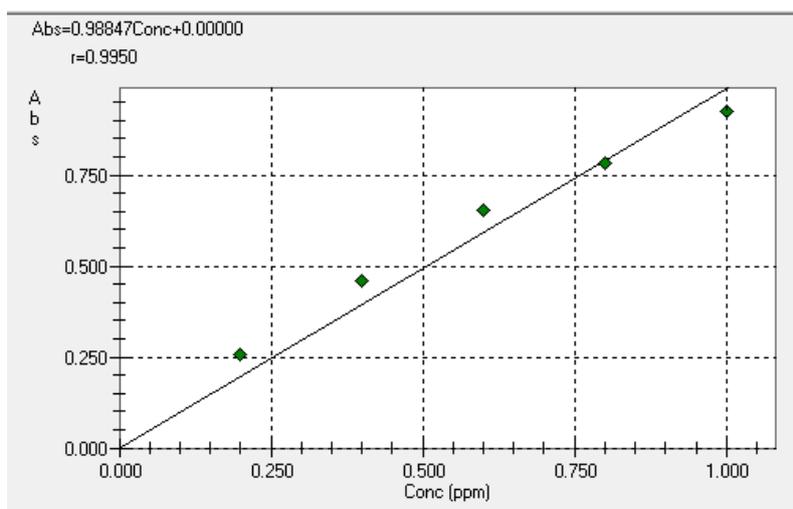


Figure N° 66 : Courbe d'étalonnage du manganèse

iv. Magnésium

Tableau N° 35 : Evaluation du taux de magnésium dans l'extrait de racines de pissenlit

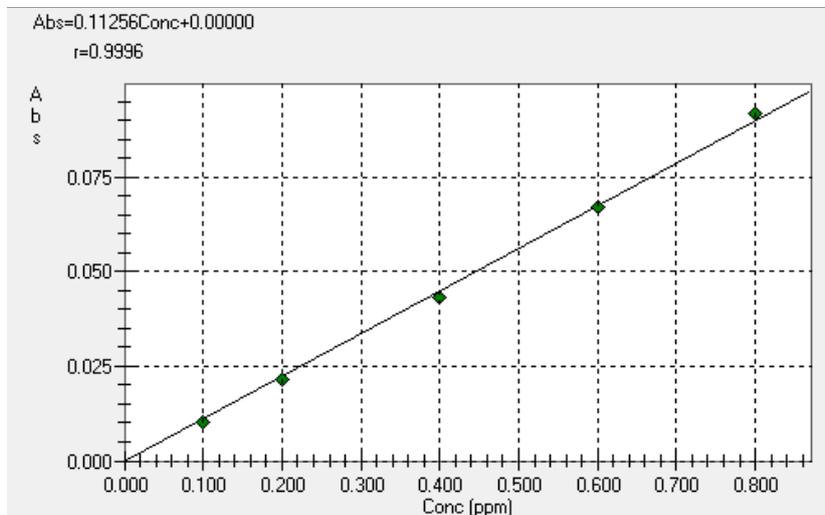
| Echantillon                        | Absorbance | Concentration (ppm) |
|------------------------------------|------------|---------------------|
| +++Extrait de racines de pissenlit | 1.7024     | 1.7223              |



**Figure N° 67 : Courbe d'étalonnage du magnésium  
v. Fer**

**Tableau N° 36 : Evaluation du taux de fer dans l'extrait de racines de pissenlit**

| Echantillon                     | Absorbance | Concentration (ppm) |
|---------------------------------|------------|---------------------|
| Extrait de racines de pissenlit | 0.3378     | 3.0010              |



**Figure N° 68 : Courbe d'étalonnage du fer  
vi. Cuivre**

**Tableau N° 37 : Evaluation du taux de cuivre dans l'extrait de racines de pissenlit**

| Echantillon                     | Absorbance | Concentration (ppm) |
|---------------------------------|------------|---------------------|
| Extrait de racines de pissenlit | 0.0542     | 0.1335              |

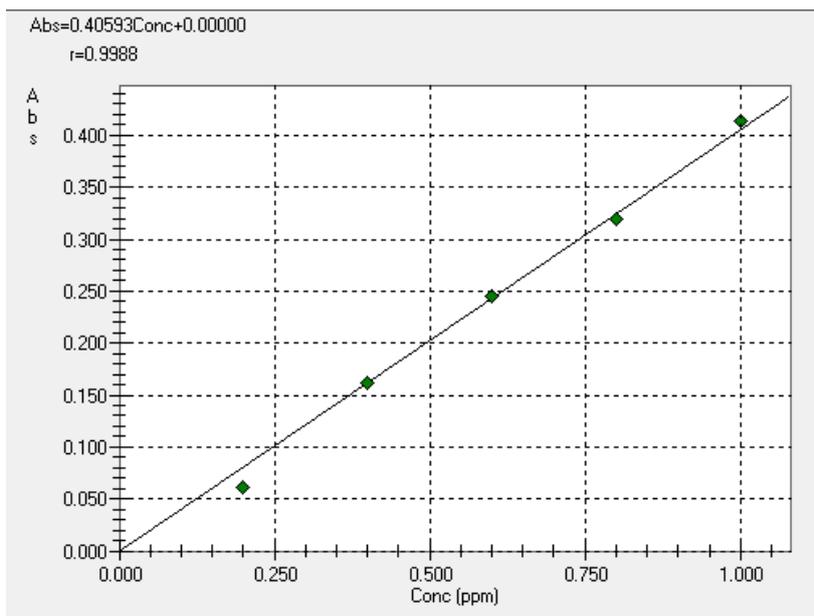


Figure N° 69 : Courbe d'étalonnage du cuivre

vii. Molybdène

Tableau N° 38 : Evaluation du taux de molybdène dans l'extrait de racines de pissenlit

| Echantillon                     | Absorbance | Concentration (ppm) |
|---------------------------------|------------|---------------------|
| Extrait de racines de pissenlit | -0.0012    | 0                   |

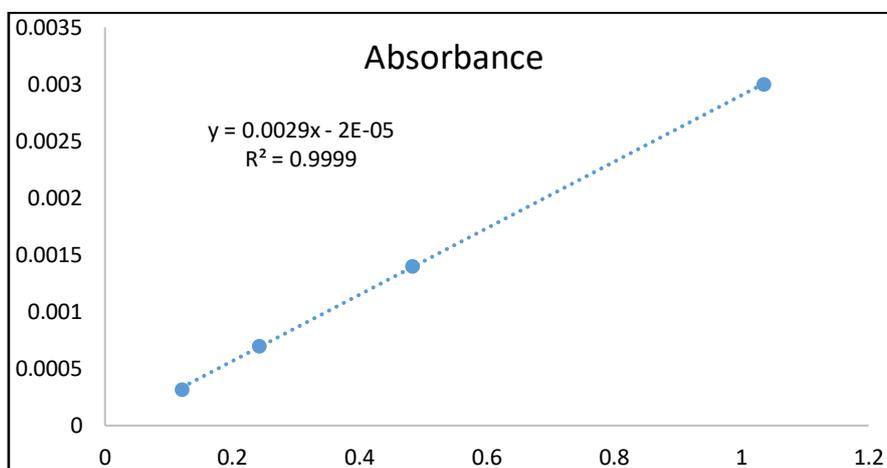


Figure N° 70 : Courbe d'étalonnage du molybdène

viii. Ion Potassium K<sup>+</sup>

Tableau N° 39 : Evaluation du taux des ions de sodium dans l'extrait de racines de pissenlit

| Echantillon                    | Concentration µ/ml |
|--------------------------------|--------------------|
| Extrait de racine de pissenlit | 28.465             |

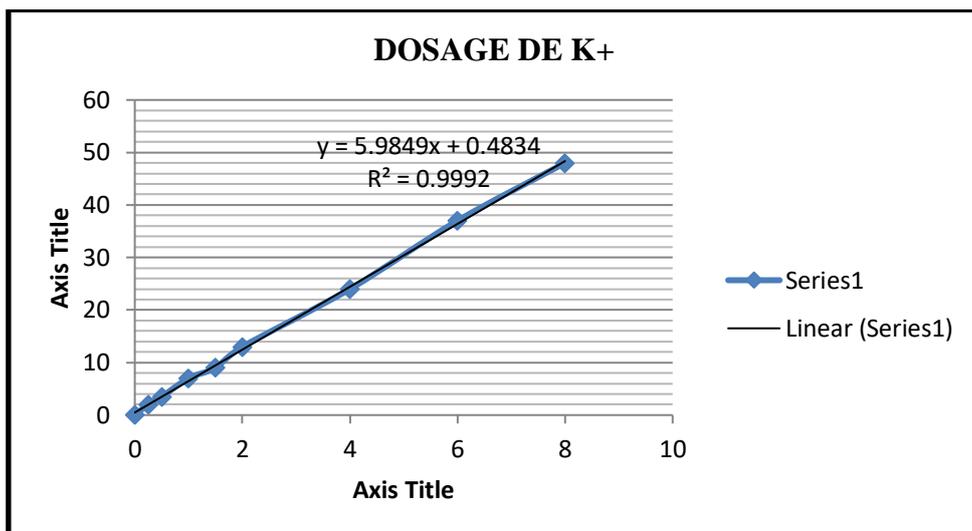


Figure N° 71 : Courbe d'étalonnage des ions de sodium

ix. Potassium  $NA^+$

Tableau N° 40 : Evaluation du taux des ions des ions de potassium dans l'extrait de racines de pissenlit

| Echantillon                    | Concentration $\mu\text{l/ml}$ |
|--------------------------------|--------------------------------|
| Extrait de racine de pissenlit | 35.084                         |

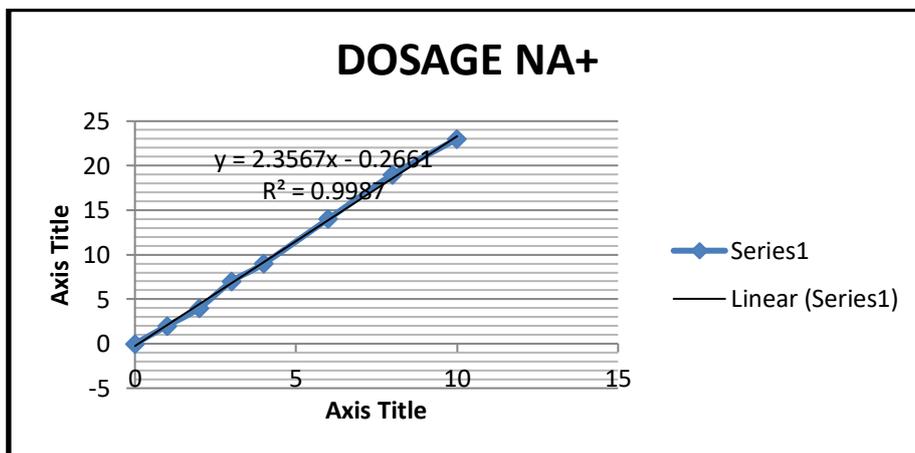


Figure N° 72 : Courbe d'étalonnage des ions de potassium

V. Évaluation de la toxicité aiguë des racines de pissenlit (*Taraxacum officinale*)

1. Evaluation des signes relatifs à la toxicité aiguë d'extrait de racines de pissenlit

Les signes de toxicité et le taux de mortalité enregistrés chez les rats soumis à l'injection intrapéritonéale d'extrait de racines de pissenlit sont représentés dans le tableau N°41

Tableau N° 41 : Comportement et signes de toxicité

| Lot                                 | Groupe | Groupe | Groupe | Groupe | Groupe     |
|-------------------------------------|--------|--------|--------|--------|------------|
| Dose mg/kg                          | 400    | 800    | 1600   | 2000   | Ethanol 5% |
| Comportement normal                 | +      | +      | -      | -      | +          |
| Démarche anormale                   | -      | -      | +      | +      | -          |
| Activité réduite                    | -      | +      | +      | +      | -          |
| Difficulté de respiration           | -      | -      | -      | -      | -          |
| Coma                                | -      | -      | +      | +      | -          |
| Blood in urine                      | -      | -      | -      | -      | -          |
| Mortality                           | -      | +      | +      | +      | -          |
| Gonflement de la partie d'injection | -      | -      | -      | -      | -          |

(+ signifie présence, - signifie absence).

## 2. Evaluation des paramètres biochimiques

### a) Evaluation du taux de la créatinine et de l'urée

La figure ci-dessous représente l'évaluation d'effet d'extrait de racines de pissenlit sur les paramètres rénaux. Le taux de la créatinine chez les rats traités avec l'extrait n'a présenté aucune différence significative par rapport aux témoins.

D'après cette analyse on note une différence très significative entre le groupe 1 et groupe 3 (témoin) et une différence significative entre les groupes 2 et 3.

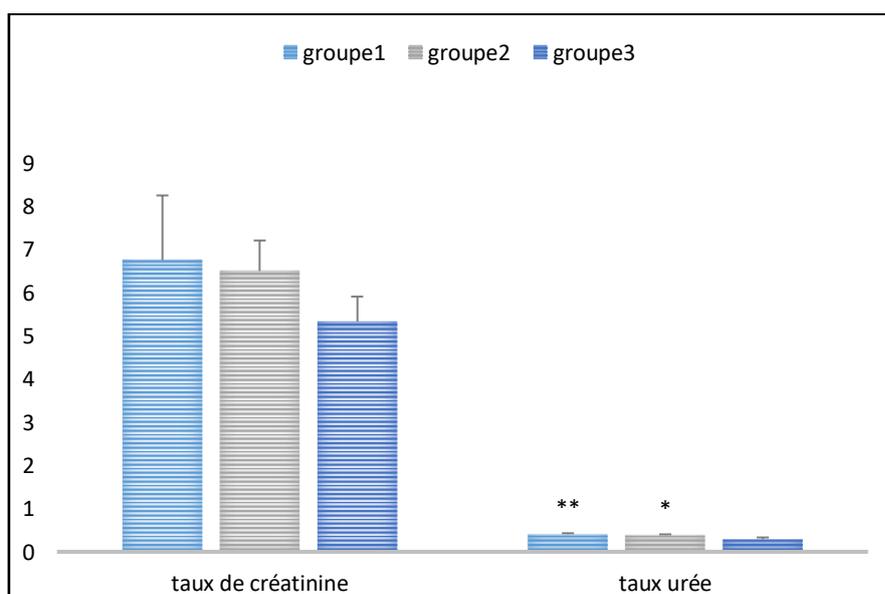


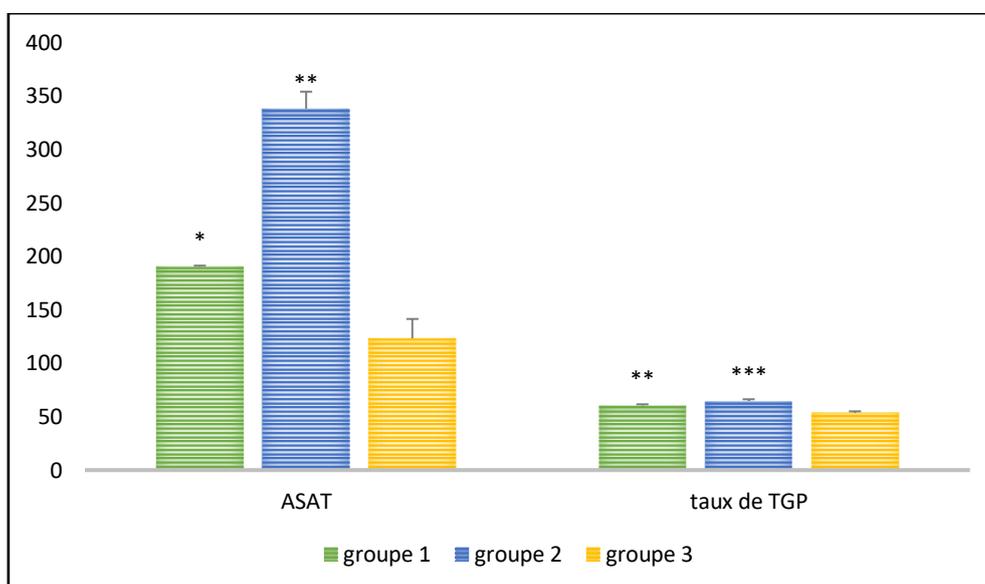
Figure N° 73 : Evaluation du taux de la créatinine (mg/dl) et urée (g/dl).

Les résultats sont représentés en moyenne et écart type, \* différence significative ( $p < 0,05$ ), \*\*différence très significative ( $p < 0,01$ ).

Groupe 1 : dose 400mg, groupe 2 : dose 800mg, groupe 3 : témoin.

### b) Evaluation des transaminases

Concernant le taux des ASAT, nous avons enregistré un résultat significatif entre le groupe 1 et 3 avec  $p < 0,05$  et une différence très significative entre le groupe 2 et le groupe 3. Concernant le taux de l'ALAT la différence été hautement significative entre les différents groupes. Une augmentation de l'activité des ALAT a été observé chez les groupes 1 et 2 (figure N°74)

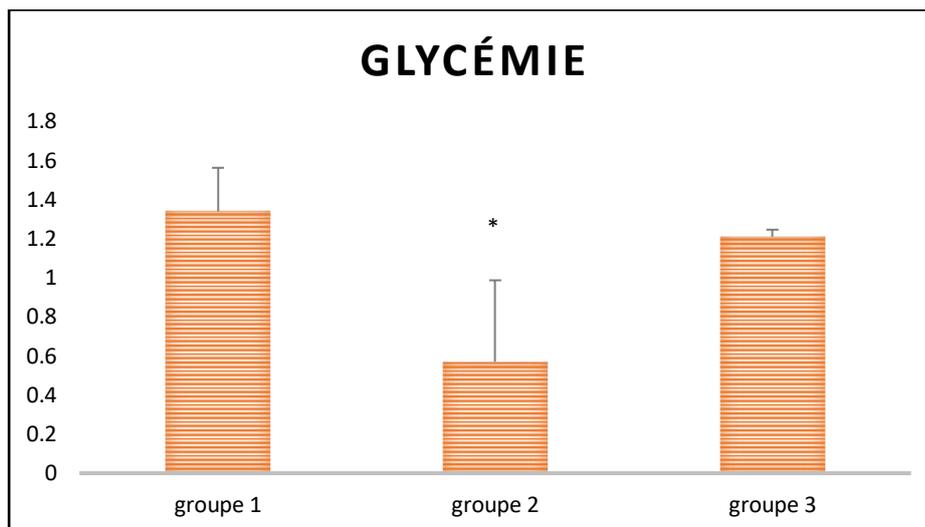


**Figure N°74 : Evaluation du taux ASAT et ALAT (UI)**

\* différence significative ( $p < 0,05$ ), \*\*différence très significative ( $p < 0,01$ ), \*\*\*différence hautement significative ( $p < 0,001$ ).

### c) Evaluation de la glycémie

L'analyse statistique des résultats obtenus lors de l'évaluation du taux de la glycémie montre une différence significative pour l'ensemble des groupes. Nous avons enregistré une hypoglycémie chez les rats traités avec une dose de 800mg par rapport au témoin (figure N° 75).

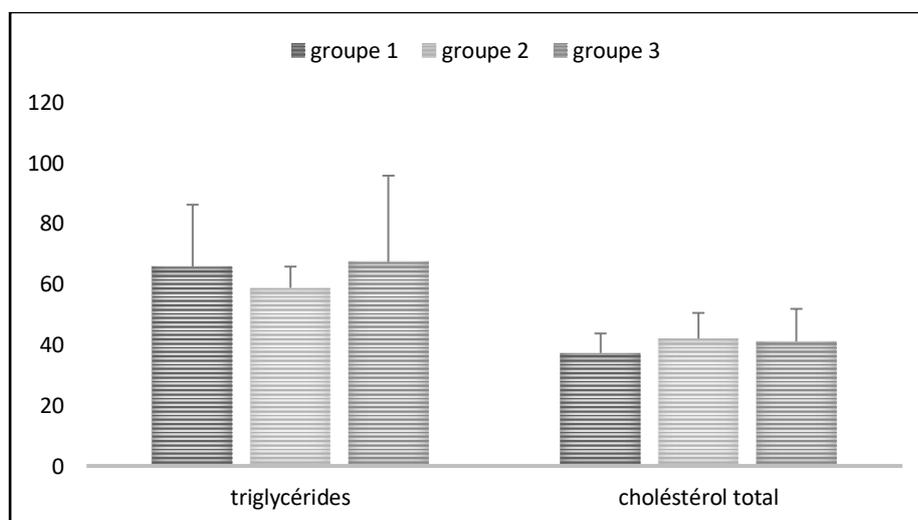


**Figure N° 75 : Evaluation du taux de glycémie g/l**

\* différence significative ( $p < 0,05$ ), \*\*différence très significative ( $p < 0,01$ ),  
 \*\*\*différence hautement significative ( $p < 0,001$ ).

#### **d) Evaluation du profil lipidique**

La figure N° 76 résume la variation de quelques paramètres lipidiques (cholestérol total et triglycérides) des rats qui ont reçu l'extrait comparés aux rats témoins.



**Figure N° 76 : Evaluation du taux de cholestérol total et des triglycérides chez les rats traités par extrait de racines de pissenlit.**

L'administration de l'extrait de racine n'a induit aucun effet toxique sur les paramètres lipidiques. Cependant, aucune différence significative n'a été constatée. Bien que les valeurs de triglycérides observées chez le groupe N°2 sont faibles par rapport aux valeurs observées chez le groupe témoin.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que la perturbation de certains paramètres biochimiques dépend de la dose, plus la dose est forte plus le taux de ces paramètres augmente.

#### e) Evaluation du profil hématologique des rats

L'évaluation des paramètres hématologiques des rats traités par l'extrait de racines de pissenlit sont représentés dans le tableau N°42

**Tableau N°42 : Evaluation des paramètres hématologiques**

| Groupe                                | Groupe 1  | Groupe 2   | Groupe 3     |
|---------------------------------------|-----------|------------|--------------|
| Taux GB $10^3/\mu\text{l}$            | 5.95±2.04 | 2.1±0.42   | 4.96±1.33    |
| Taux GR $10^3/\mu\text{l}$            | 7.74±0.14 | 7.65±0.12  | 7.79±0.52    |
| Taux hémoglobine<br>g/dl              | 12.1±0.11 | 11.3±0.84  | 12.46±0.66   |
| Taux plaquettes<br>$10^3/\mu\text{l}$ | 630±74.66 | 787±205.06 | 556.66±39.79 |

Les rats traités par l'extrait de racines ont conservés des taux normaux pour l'ensemble des paramètres hématologiques, cependant aucun changement significatif n'est observé. Cela témoigne de l'absence des effets toxiques.

## VI. Evaluation de l'activité anti-myélomateuse de Taraxacum Officinale

### a) Evaluation des signes relatifs à l'induction de myélome multiple

Le tableau suivant représente le comportement et les signes de toxicité enregistrés chez les rats soumis à l'injection intraveineuse du benzène

**Tableau N° 43 : Evaluation des signes relatifs à l'induction du myélome multiple**

| Signe                               | Présence (+) / Absence (-) |
|-------------------------------------|----------------------------|
| Convulsion                          | +                          |
| Difficulté de respiration           | -                          |
| Activité réduite                    | +                          |
| Diarrhée                            | -                          |
| Coma                                | +                          |
| Sang dans les urines                | -                          |
| Gonflement de la partie d'injection | +                          |
| Chute de poils                      | +                          |
| Ictère                              | +                          |

|                    |   |
|--------------------|---|
| Mortalité          | + |
| Somnolence         | + |
| Perte de poids     | + |
| Rougeur de la peau | + |

**Tableau N° 44 : Pourcentage de Mortalité chez les rats rendus myélomateux**

| Groupe         | Groupe N° 1 (TN) | Groupe N° 2 (TP) | Groupe N° 3 (TR) | Groupe N° 4 (TC) | Groupe N° 5 (R) | Groupe N° 6 (C) |
|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|
| % de mortalité | 0%               | 37.5%            | 25%              | 12.5%            | 0%              | 0%              |

Groupe N°1 : témoin négatif (TN) , Groupe N°2 : témoin positif (TP) , Groupe N°3 : myélomateux plus traitement racinaire (TR) , Groupe N°4 : myélomateux plus traitement combiné (TC) , Groupe N°5 : traitement racine (R), Groupe N°6 : traitement combiné (C).

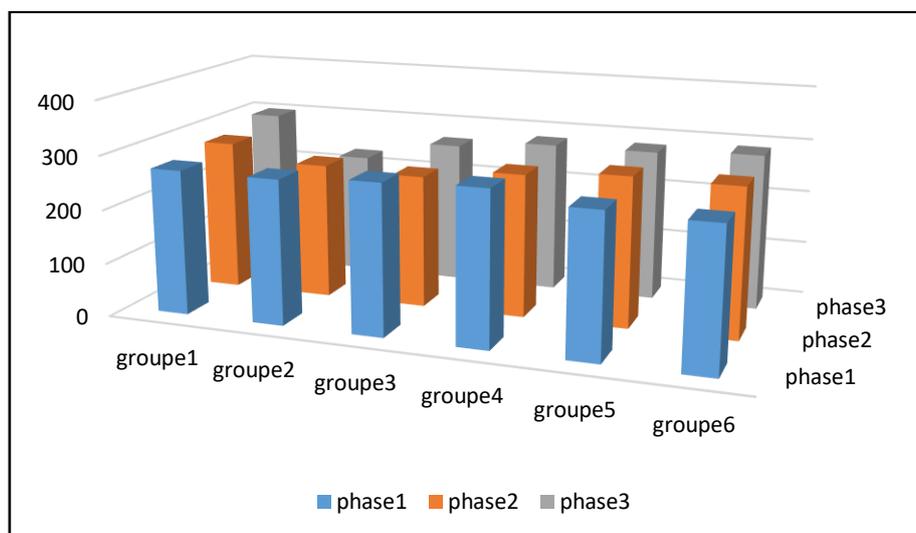


**Figure N° 77 : Signes relatifs à l'intoxication par le benzène**

**b) Evaluation du poids corporel**

La figure suivante représente l'évaluation du poids corporel en fonction des trois phases de l'expérience. Nous avons noté une diminution du poids corporel chez les rats rendus

myélomateux (groupe1, groupe2, groupe3, groupe4). Lors de la troisième phase nous avons enregistré une augmentation du poids corporel.



**Figure N° 78 : Evaluation du poids corporel en fonction du temps**

**Groupe 1** : témoin négatif, **groupe 2** : témoin positif, **groupe 3** : myélomateux plus traitement racinaires, **groupe 4** : myélomateux plus traitement combiné (feuilles+ racines), **groupes 5** : extrait de racines, **groupe 6** : extrait combiné.

**Phase 1** : avant induction du myélome multiple

**Phase 2** : après induction du myélome multiple

**Phase 3** : après traitement

#### c) Evaluation du taux d'urée et créatinine

Le tableau N°45 représente l'évaluation de la fonction rénale chez les rats myélomateux et les rats traités

**Tableau N°45 : Evaluation du taux de la créatinine (mg/dl) et urée (g/dl)**

| Urée                                      |         |         |         |         |         |         |         |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|   | Groupe  | G1 (TN) | G2 (TP) | G3 (TR) | G4 (TC) | G5 (R)  | G6 (C)  |
| Tolérance du traitement + induction du MM | G1 (TN) | 0.23    | 0.93*** | 0.23    | 0.18    | 0.19    | 0.24    |
| Efficacité du traitement                  | G2 (TP) | 0.23*** | 0.93    | 0.23*** | 0.18*** | 0.19*** | 0.24*** |
| Créatinine                                |         |         |         |         |         |         |         |
|   | Groupe  | G1 (TN) | G2 (TP) | G3 (TR) | G4 (TC) | G5 (R)  | G6 (C)  |

|   |         |         |         |         |         |         |         |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Tolérance du traitement + induction du MM | G1 (TN) | 0.79    | 8.52*** | 7.21    | 6.37    | 6.13*** | 5.43*** |
| Efficacité du traitement                  | G2 (TP) | 0.79*** | 8.52    | 7.21*** | 6.37*** | 6.13*   | 5.43*** |

\* différence significative ( $p < 0,05$ ), \*\*différence très significative ( $p < 0,01$ ), \*\*\*différence hautement significative ( $p < 0,001$ ).

**NB :** nous avons comparé les groupes (N°2, N°5, N°6) avec le groupe N°1 (témoin négatif) pour voir les effets secondaire du traitement et pour confirmer l'induction du myélome multiple. En outre, nous avons comparé les groupes (N°3 et N°4) avec le groupe N°2 pour évaluer l'efficacité du traitement.

Le taux de l'urée chez les rats qui ont reçu uniquement le traitement était dans les normes par rapport au témoin négatif aucune perturbation n'a été observée. Par contre une perturbation hautement significative a été notée chez les rats intoxiqués par le benzène. Chez les rats qui ont été intoxiqués ensuite traité les résultats étaient hautement significatifs et le taux d'urée s'est normalisé.

Pour le taux de la créatinine, nous avons noté une différence hautement significative entre les groupes traités avec les extraits de pissenlit et le groupe témoin négatif.

#### d) Evaluation des transaminases

La figure suivante représente l'évaluation de la fonction hépatique. Concernant le taux d'ASAT nous avons enregistré une perturbation hautement significative entre le groupe témoin négatif et les autres groupes.

Par ailleurs, nous avons noté une augmentation très significative du taux d'ALAT chez tous les groupes par rapport au groupe témoin négatif.

**Tableau N°46 : Evaluation du taux des transaminases (UI)**

| ASAT                                      |         |         |          |         |         |          |          |
|---|---------|---------|----------|---------|---------|----------|----------|
|   | Groupe  | G1 (TN) | G2 (TP)  | G3 (TR) | G4 (TC) | G5 (R)   | G6 (C)   |
| Tolérance du traitement + induction du MM | G1 (TN) | 35.78   | 122.37** | 209.83  | 164.87  | 130.94** | 137.73** |

|   |         |          |         |          |           |        |         |
|---|---------|----------|---------|----------|-----------|--------|---------|
| Efficacité du traitement                  | G2 (TP) | 35.78**  | 122.37  | 209.83** | 164.87*** | 130.94 | 137.73  |
| <b>ALAT</b>                               |         |          |         |          |           |        |         |
|   | Groupe  | G1 (TN)  | G2 (TP) | G3 (TR)  | G4 (TC)   | G5 (R) | G6 (C)  |
| Tolérance du traitement + induction du MM | G1 (TN) | 109.35   | 89**    | 152      | 108.56    | 66.98* | 67.62** |
| Efficacité du traitement                  | G2 (TP) | 109.35** | 89      | 152*     | 108.56*   | 66.98  | 67.62   |

\* différence significative ( $p < 0,05$ ), \*\*différence très significative ( $p < 0,01$ ),

\*\*\*différence hautement significative ( $p < 0,001$ ).

#### e) Evaluation du profil lipidique

Le tableau N° 47 résume les variations du taux de cholestérol et le taux des triglycérides. Nous avons noté une augmentation très significative des triglycérides chez le groupe intoxiqué. Par contre chez les groupes qui ont reçu le traitement nous avons noté une diminution hautement significative par rapport au premier et deuxième groupe.

Concernant le taux du cholestérol nous avons enregistré une hypocholestérolémie dans tous les groupes par rapport au groupe témoin négatif.

**Tableau N°47 : Evaluation du taux de cholestérol total et des triglycérides mmol/l**

| <b>Triglycérides</b>                      |         |         |         |         |         |         |         |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|   | Groupe  | G1 (TN) | G2 (TP) | G3 (TR) | G4 (TC) | G5 (R)  | G6 (C)  |
| Tolérance du traitement + induction du MM | G1 (TN) | 0.64    | 1.21**  | 0.52    | 0.54    | 0.59*** | 0.43*** |
| Efficacité du traitement                  | G2 (TP) | 0.64**  | 1.21    | 0.52**  | 0.54*** | 0.59    | 0.43    |
| <b>Cholestérol total</b>                  |         |         |         |         |         |         |         |
|   | Groupe  | G1 (TN) | G2 (TP) | G3 (TR) | G4 (TC) | G5 (R)  | G6 (C)  |

|   |         |        |        |        |         |        |        |
|---|---------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|
| Tolérance du traitement + induction du MM | G1 (TN) | 0.79   | 0.53** | 0.49   | 0.63    | 0.37** | 0.73** |
| Efficacité du traitement                  | G2 (TP) | 0.79** | 0.53   | 0.49** | 0.63*** | 0.37   | 0.73   |

\* différence significative ( $p < 0,05$ ), \*\*différence très significative ( $p < 0,01$ ), \*\*\*différence hautement significative ( $p < 0,001$ ).

#### f) Evaluation de la protéine C réactive

Les résultats obtenus ont montré un profil de protéine C-réactive positif dans le groupe intoxiqué par le benzène. Les traitements proposés ont montré une activité anti-inflammatoire importante exprimée par une CRP négative dans les groupes traités pour le myélome à 75 % sur les animaux traités dans les deux groupes (3 et 4).

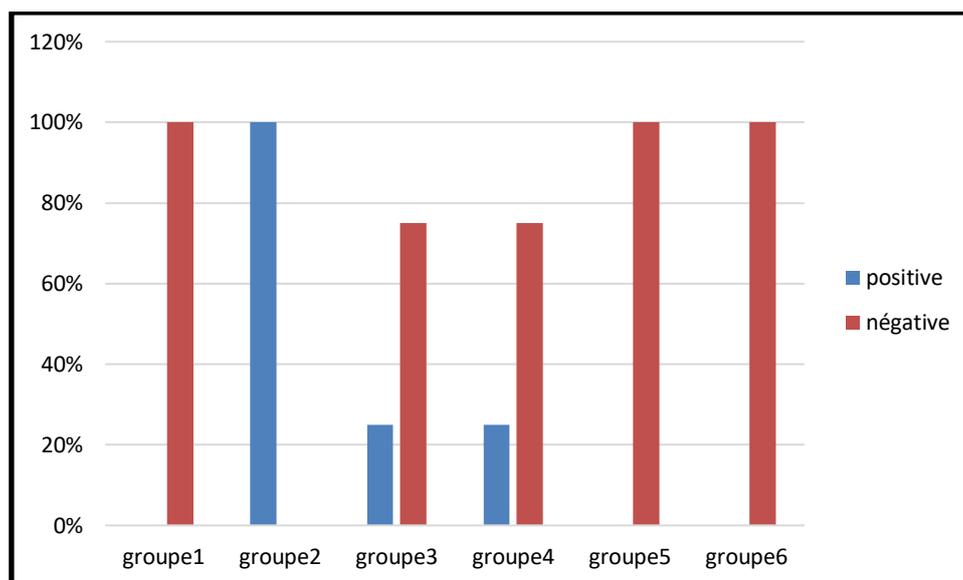
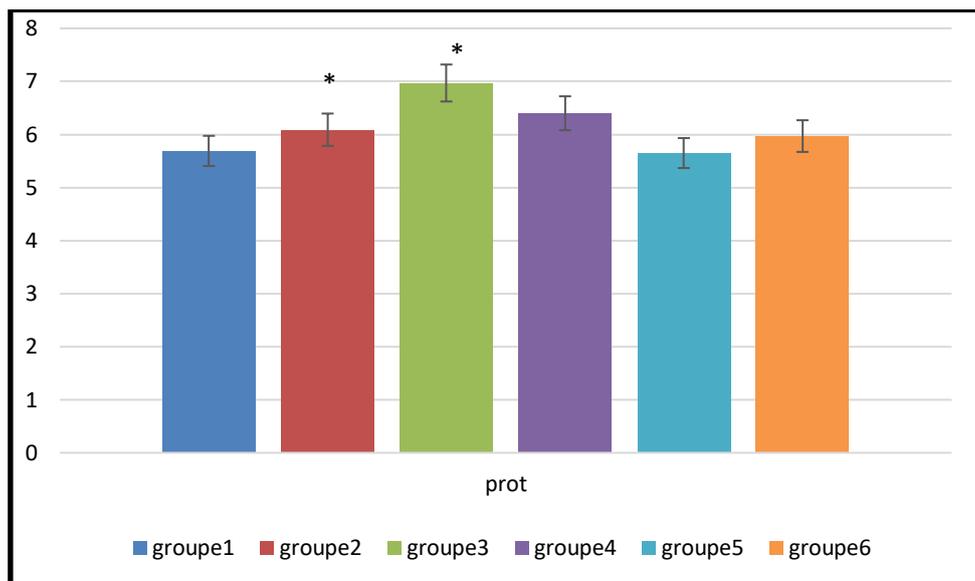


Figure N° 79 : Evaluation de la protéine C-réactive

#### g) Evaluation de la protidémie

D'après l'analyse des données nous avons noté une différence significative  $p < 0,05$  entre le groupe3 et 5 par rapport au groupe témoin négatif

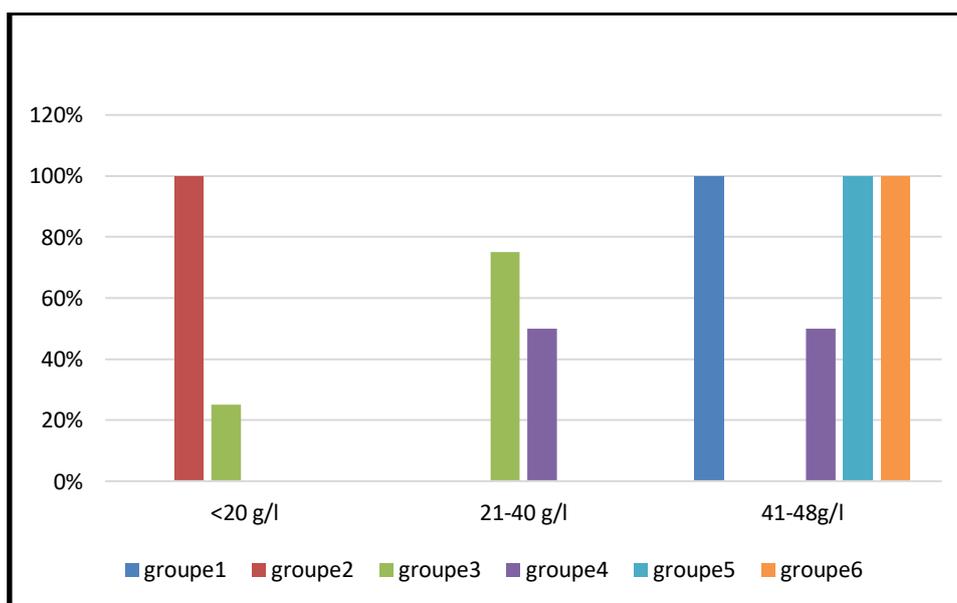


**Figure N° 80 : Evaluation du taux des protéines totales**

\* différence significative ( $p < 0,05$ ), \*\*différence très significative ( $p < 0,01$ ), \*\*\*différence hautement significative ( $p < 0,001$ ).

**h) Evaluation du taux d’albumine**

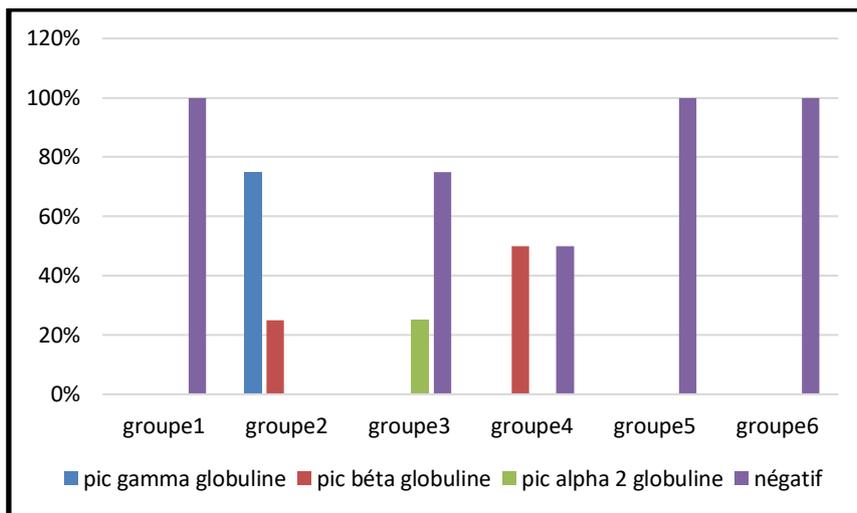
La figure ci-dessous représente l’évaluation du taux de l’albumine. Cependant, nous avons noté une hypo-albuminémie hautement significative dans le groupe 2 uniquement, par rapport aux témoins négatifs. Les traitements ont montré un effet améliorateur considérable sur l’hypo-albuminémie chez 75 % et 50 % des animaux atteints de myélome traités avec des racines et des extraits combinés respectivement.



**Figure N° 81 : Evaluation de l’albumine**

**i) Electrophorèse des protéines sériques**

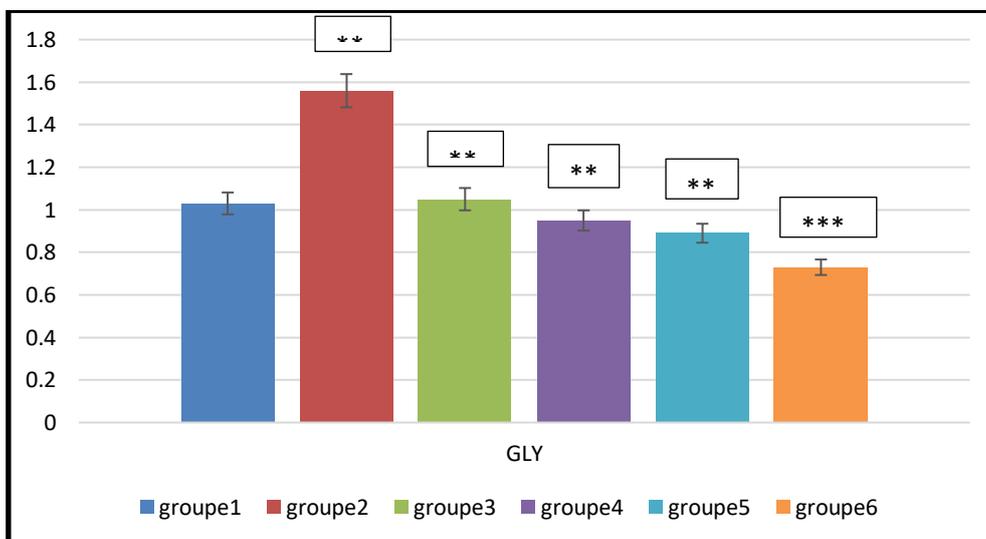
Nos résultats concernant les taux de protéines sériques ont montré une prédominance des pics dans la région gamma globuline (75 %), par rapport à la région bêta globuline (25 %) bien que les pics dans la région gamma et bêta confirment un profil de myélome. Les résultats de l'électrophorèse étaient négatifs chez (75 %) et (50 %) des animaux du troisième et du quatrième groupe respectivement, ce qui indique que l'extrait de racines était plus efficace pour corriger les taux d'immunoglobulines sériques par rapport à l'extrait combiné.



**Figure N° 82 : Electrophorèse des protéines sériques (g/l)**

**j) Evaluation de la glycémie**

Les résultats de l'évaluation de la glycémie ont montré que l'induction du myélome était associée à une hyperglycémie dans le deuxième groupe où les valeurs de la glycémie étaient supérieures à la normale. Dans les groupes 3 et 4 ayant reçu les deux traitements, ainsi que les groupes 1 (témoins négatifs) 5 et 6, les glycémies moyennes étaient dans les normes.

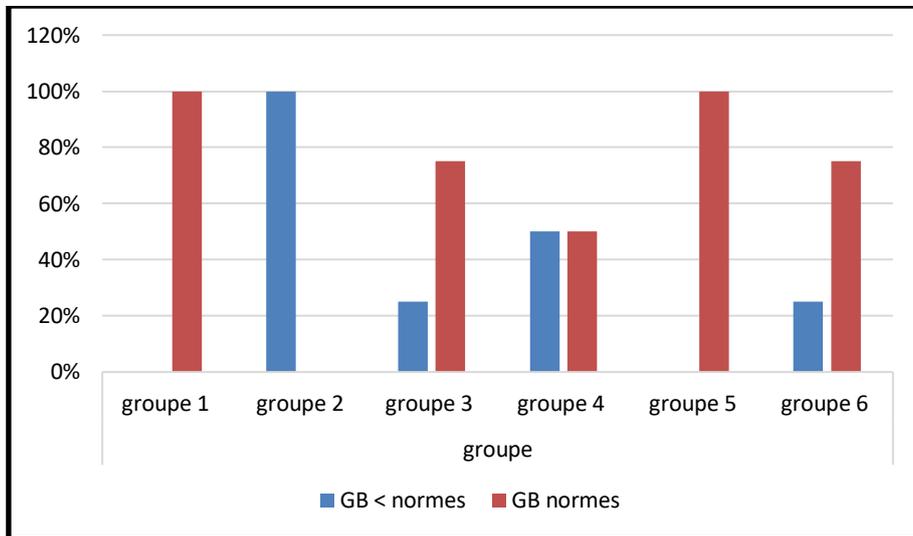


**Figure N° 83 : Evaluation du taux de glycémie g/l**

\* différence significative (p<0,05), \*\*différence très significative (p<0,01), \*\*\*différence hautement significative (p<0,001).

**k) Evaluation du profil hématologique**

**1) Globules blancs**

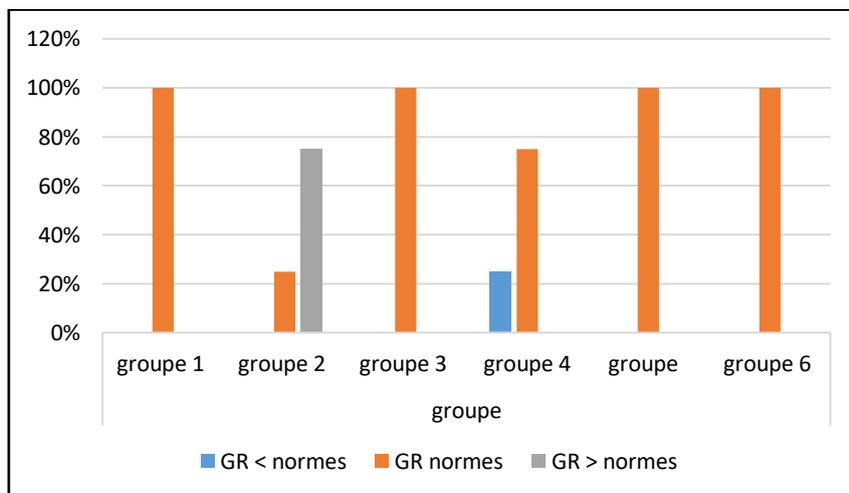


**Figure N° 84 : Evaluation du taux de globules blancs (10<sup>9</sup>/mm<sup>3</sup>)**

| Globules blancs          |         |         |         |         |         |        |        |
|--------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|
|                          | Groupe  | G1 (TN) | G2 (TP) | G3 (TR) | G4 (TC) | G5 (R) | G6 (C) |
| Tolérance du traitement  | G1 (TN) |         | **      |         |         | **     |        |
| Efficacité du traitement | G2 (TP) | **      |         | **      | **      |        |        |

\* différence significative (p<0,05), \*\*différence très significative (p<0,01), \*\*\*différence hautement significative (p<0,001).

**2) Globules rouges**



**Figure N° 85 : Evaluation du taux de globules rouges (10<sup>12</sup>/mm<sup>3</sup>)**

| Globules rouges          |         |         |         |         |         |        |        |
|--------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|
|                          | Groupe  | G1 (TN) | G2 (TP) | G3 (TR) | G4 (TC) | G5 (R) | G6 (C) |
| Tolérance du traitement  | G1 (TN) |         | **      |         |         |        |        |
| Efficacité du traitement | G2 (TP) | **      |         | ***     | ***     |        |        |

\* différence significative (p<0,05), \*\*différence très significative (p<0,01), \*\*\*différence hautement significative (p<0,001).

### 3) Hémoglobine

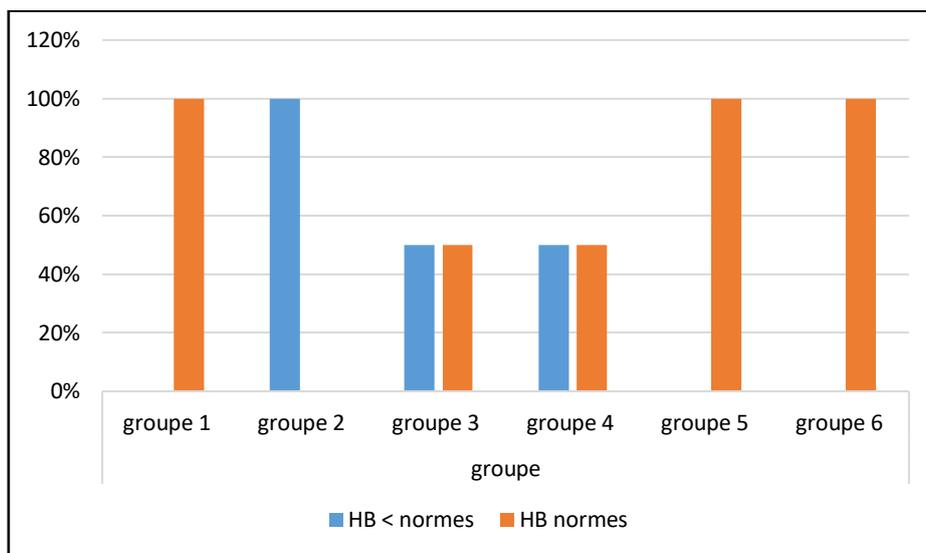


Figure N° 86 : Evaluation du taux d'hémoglobine (g/dl)

| Hémoglobine              |         |         |         |         |         |        |        |
|--------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|
|                          | Groupe  | G1 (TN) | G2 (TP) | G3 (TR) | G4 (TC) | G5 (R) | G6 (C) |
| Tolérance du traitement  | G1 (TN) |         | ***     |         |         |        |        |
| Efficacité du traitement | G2 (TP) | ***     |         | *       | *       |        |        |

\* différence significative (p<0,05), \*\*différence très significative (p<0,01), \*\*\*différence hautement significative (p<0,001).

#### 4) Plaquettes

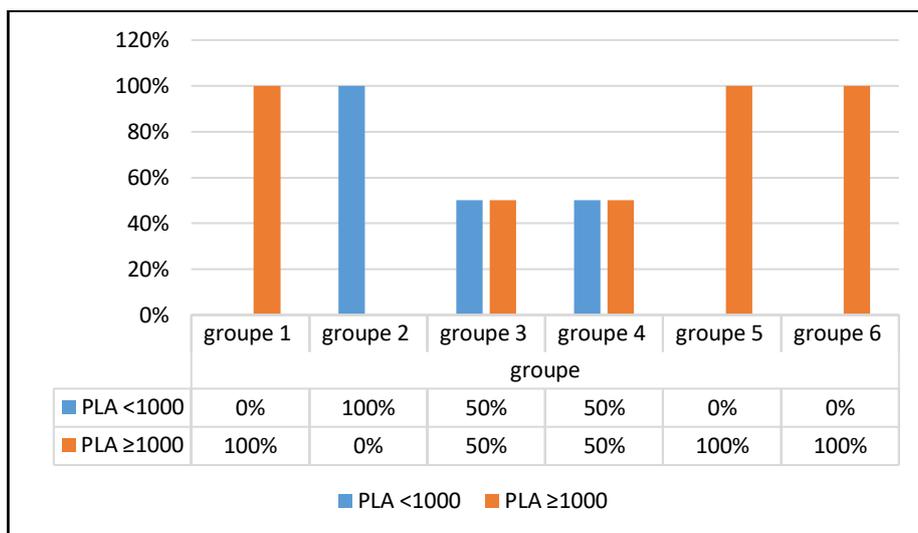


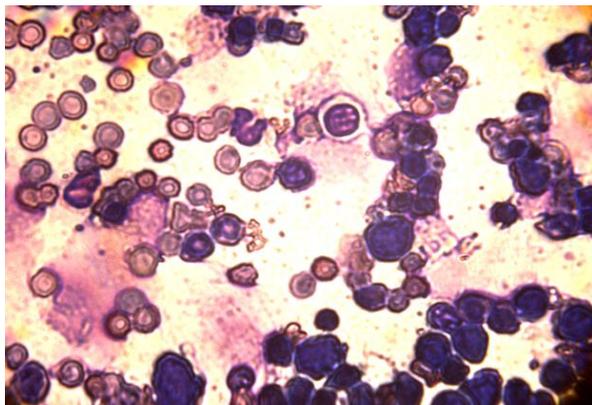
Figure N° 87 : Evaluation du taux de plaquettes ( $10^9/mm^3$ )

| Plaquettes               |         |         |         |         |         |        |        |
|--------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|
|                          | Groupe  | G1 (TN) | G2 (TP) | G3 (TR) | G4 (TC) | G5 (R) | G6 (C) |
| Tolérance du traitement  | G1 (TN) |         | ***     |         |         |        |        |
| Efficacité du traitement | G2 (TP) | ***     |         | **      | **      |        |        |

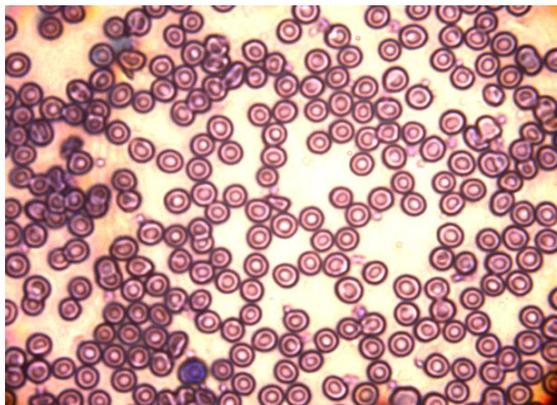
\* différence significative ( $p < 0,05$ ), \*\*différence très significative ( $p < 0,01$ ), \*\*\*différence hautement significative ( $p < 0,001$ ).

Les figures N° 84, 85, 86, 87 représentent l'évaluation du profil hématologique. Après l'analyse des données nous avons observé une perturbation au niveau des différents paramètres hématologiques. Nous avons une leucopénie, anémie, thrombopénie.

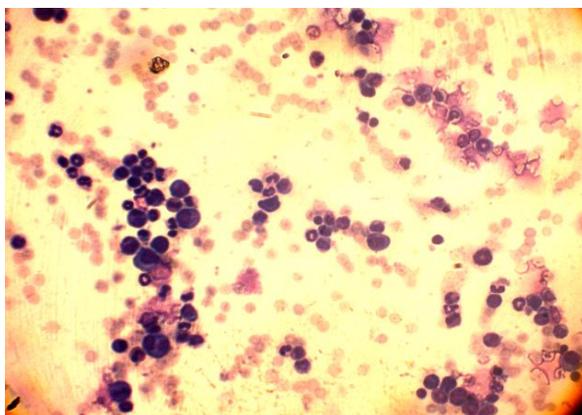
### 5) Frottis sanguin et myélogramme



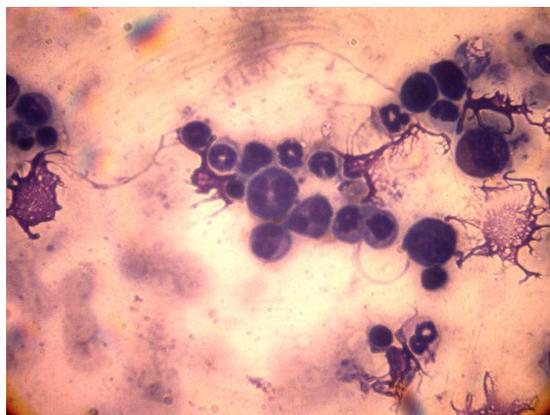
**Figure N° 88 : Frottis médullaire témoin négatif (HE ×100)**



**Figure N° 89 : Frottis sanguin témoin négatif (HE ×100)**



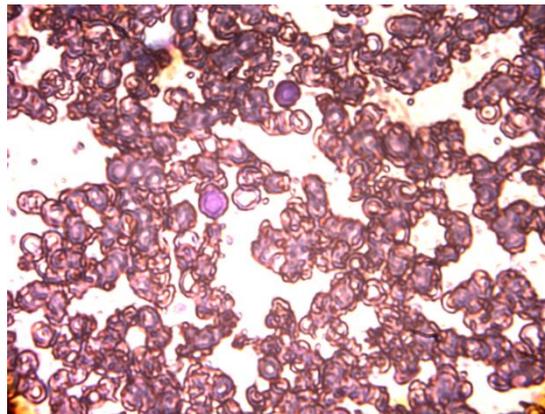
**Figure N° 90 : Envahissement plasmocytaire médullaire (HE ×40)**



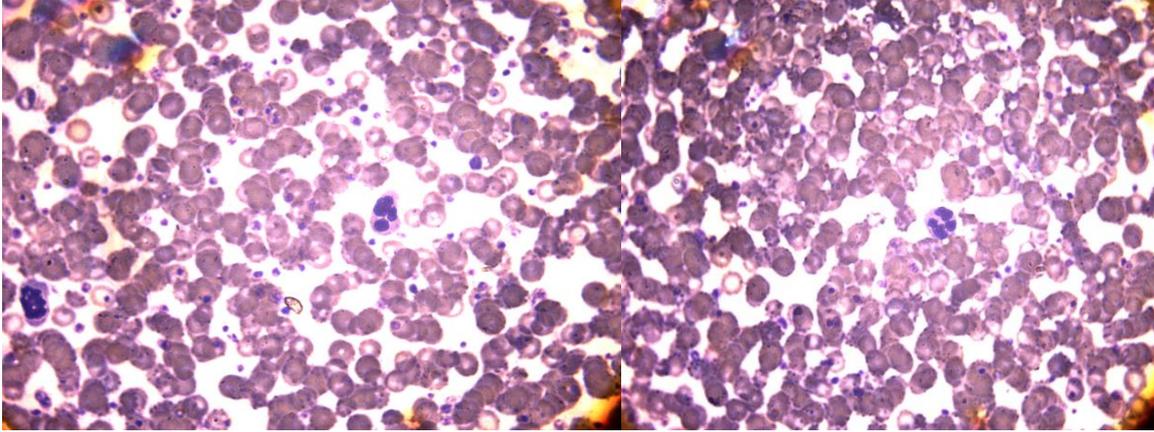
**Figure N° 91 : Envahissement plasmocytaire médullaire (HE ×100)**



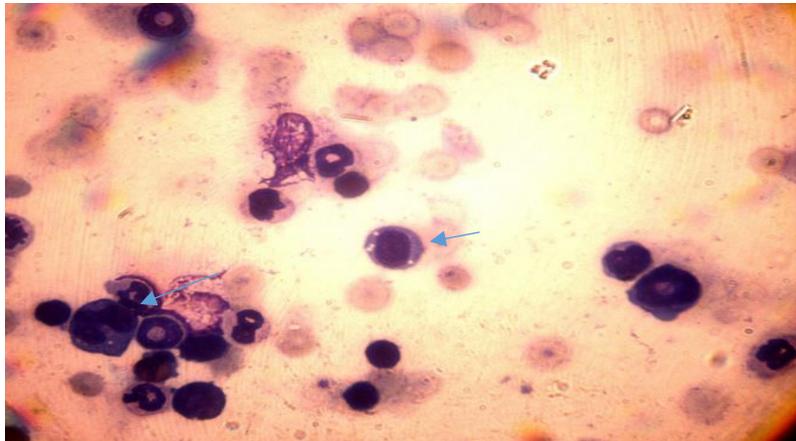
**Figure N° 92 : Hématies en rouleaux (HE ×40)**



**Figure N° 93 : Hématies en rouleaux (HE ×100)**

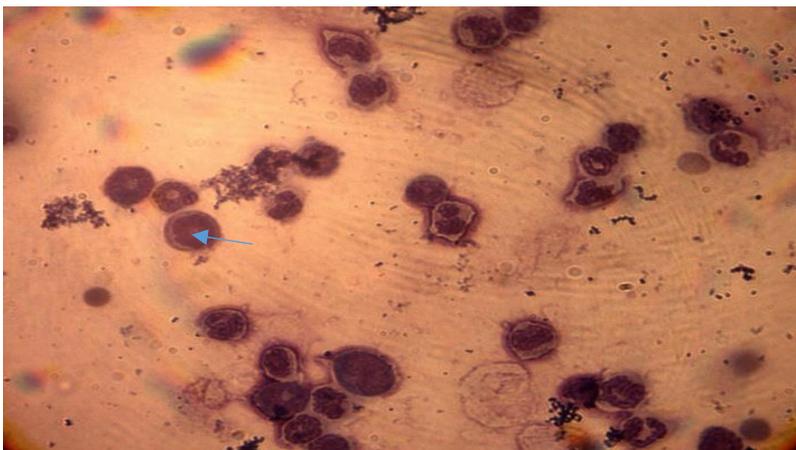


**Figure N° 94 : plasmocyte circulant avec des rouleaux érythrocytaire sur frottis sanguin (HE ×100)**



**Figure N° 95 : Plasmocyte à cytoplasme flammé avec vacuole intra-cytoplasmique sur frottis médullaire (HE ×100)**

→ Plasmocyte à cytoplasme flammé avec vacuole



**Figure N° 96 : plasmocyte binucléé sur un frottis médullaire (HE ×40)**

→ Plasmocyte binucléé

L'analyse du frottis sanguin montre la présence des hématies en rouleaux, anémie et aussi des plasmocytes malins circulant entre les rouleaux érythrocytaires. D'autre part, le myélogramme montre la présence des plasmocytes malins (plasmocytes avec multinucléarité et des plasmocytes avec cytoplasme flammé).

## VII. Discussion générale

### A. Profil épidémiologique et clinique des patients atteints de myélome multiple

Le myélome multiple représente environ 1 % de tous les cancers mondiaux et environ 2% de morts liées aux cancers, d'une façon générale l'incidence augmente avec l'âge, la médiane d'âge est de 72 ans mais se traduit à 65 ans dans les séries hospitalières, la survenue chez les adolescents et les jeunes adultes reste exceptionnelle (**Leuleu X et Manier S, 2011**). La prévalence annuelle chez les patients moins de 65 ans est de 64% (**Bekadja MA, 2009**). D'autre part, les résultats obtenus par Koffi KG montrent que la médiane d'âge est de 65 ans (**Koffi Kg, 2000**). Dans notre série l'âge moyen des patients au moment du diagnostic était de 62 ans avec des extrêmes allant de 44 à 85 ans et un pic de fréquence entre 61 et 70 ans ce qui concorde avec les résultats des autres études (**Smith et al, 2013**).

Le myélome multiple est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes (**Cairolì et al, 2013**). Dans notre série la distribution de la population en fonction du sexe a fait apparaître une légère prédominance masculine avec un sexe ratio de 1.13. L'étude menée par Bekadja montre que le sexe ratio en Algérie est de 1.14 (**Bekadja, 2009**). Cependant nos résultats sont similaires à la littérature.

Les circonstances de découverte au cours de myélome multiple sont diverses, le plus souvent il s'agit de signes osseux suivi par la prédisposition aux infections. L'analyse de nos données montre que les douleurs osseuses étaient le principal motif de consultation avec un pourcentage de 55%. D'autre part, la fréquence des infections étaient de 36%. Cependant, l'étude menée par Koffi KG montre que les complications infectieuses étaient dominées par une tuberculose pulmonaire avec un pourcentage de 67% (**Koffi Kg, 2000**). Aussi nous avons révélé que l'atteinte rénale, l'asthénie et l'anémie font partie des signes révélateurs détectés dans cette série, ce qui est similaire avec l'étude de Bouatayet et al en 2012 (**Bouatayet et al, 2012**).

D'après nos résultats, l'hyperprotidémie a été noté chez 55% des cas. Selon l'étude faite par Nodmocráh et son équipe l'hyperprotédémie était présente chez 60% des cas (**Nodmocráh et al, 2013**).

L'électrophorèse des protéines sériques représente un marqueur de choix pour le diagnostic du myélome multiple, notre étude a révélé une migration prédominante des IgM en zone gamma suivi par les IgM migrant en beta ce qui concorde avec les résultats obtenus par Madani et ces collaborateurs qui ont déterminé une migration en zone gamma avec un pourcentage de 80% (**Madani et al, 2009**). D'autre part, l'étude menée par Bouferioua et son équipe a objectivé un pic monoclonal dans la zone des gammaglobulines avec un pourcentage de 67.5% (**Bouferioua et al, 2021**). Aussi nos résultats sont similaires à ceux des études de Bouatay et Kyle ou un pic monoclonal a été déterminé respectivement chez 82% et 75.9% des patients (**Bouatay et al, 2013 ; Kyle RA, 1975**). La place prépondérante qui occupe les IgG dans notre étude (61%) est retrouvé également dans la majorité des travaux sauf dans l'étude d'El Mezouar ou le myélome à chaîne légère été prédominant (**El Mezouar, 2010 ; Koffi Kg, 2000 ; Benayaich, 2001**). Par contre dans notre série nous n'avons pas noté de cas de myélome à IgE ni de myélome à IgD.

L'immunofixation des protéines est un examen qui permet de déterminer le caractère monoclonal de la gammopathie et de déterminer son type immunochimique, dans notre série la répartition des patients en fonction de type de chaîne légère montre une prédominance de la chaîne légère de type Kappa avec un pourcentage de 66% contre 34% de chaîne légère de type lambda.

La recherche de protéinurie reste indispensable surtout dans le cas où l'EPS n'a permis de déterminer que l'hypogammaglobulinémie sans bande anormale. Cette protéinurie de Bence Jones correspond à la présence de chaînes légère libre, dans notre cohorte la PBJ s'est révélé positive chez 27% des cas de myélome multiple, le pourcentage que nous avons obtenu est inférieur à celui reporté dans les autres études (**El Mezouar, 2010 ; Kyle RA, 1975**).

Le dosage de la calcémie fait partie des examens systématiques pour la surveillance des patients atteints de myélome multiple. La recherche de complications dans notre étude a permis d'observer une hypercalcémie chez 66% de nos patients, ce qui est similaire avec ceux trouvé par Madani et ces collaborateurs (**Madani et al, 2009**). L'hypoalbuminémie a été retrouvé chez 47% de nos patients. D'autre part, le taux de bêta 2 microglobuline et de la LDH ont été retrouvé supérieurs aux normes chez nos patients avec un pourcentage 35%, 54%. Une altération rénale attesté par un taux de créatinine > 20 mg/l a été présente chez 27% des cas. Ces résultats concorde avec la littérature (**El Mezouar, 2010 ; Benayaich, 2001 ; Ngone G, 2001**).

La CRP reflète le taux d'interleukine 6 (IL6) (**Bataille R et al, 1997**). Elle appartient aux facteurs pronostiques liés à la malignité intrinsèque du clone, sa concentration sérique est

corrélé à la survie et à l'activité proliférative de cellules myélomateuses (**Chomobart B et al, 2005**). Notre étude montre que la CRP était supérieure aux normes chez 32% des cas.

Sur le plan hématologique, la vitesse de sédimentation (VS) est souvent élevée à la première heure, dans la présente étude la VS est augmentée chez 68% des cas. Ce résultat concorde avec celui rapporté par Bouferiouat et son équipe (**Bouferiouat et al, 2021**).

Dans le myélome multiple l'anémie résulte de l'envahissement médullaire par les plasmocytes malins, dans notre série la fréquence de l'anémie était de 90%. Cependant, la fréquence d'anémie était estimée à 53,56% pour El Mezouar et 62,5% pour Bouferiouat et al en 2021 (**El Mezouar, 2010 ; Bouferiouat et al, 2021**).

La leucopénie et la thrombopénie étaient retrouvés respectivement chez 30%, 40% de nos patients ce qui est relativement similaire aux résultats de la littérature (**Bouferiouat et al, 2021**).

Sur le plan cytologique, le myélogramme a montré une moelle riche envahie à plus de 10% des plasmocytes chez 90% des patients, parmi lesquels 84% avaient des plasmocytes dystrophiques. Ces plasmocytes observés présentaient des critères cytologiques de malignité, il s'agissait surtout des multiples noyaux, des noyaux centraux, des plasmocytes vacuolés, des plasmocytes en Mottes et des plasmocytes flammés. 7% des patients avaient des plasmocytes d'allure normale. Nos résultats rejoignent les données de la littérature (**El Mezouar, 2010 ; Bouferiouat et al, 2021**).

## **B. Place de l'autogreffe dans la prise en charge des patients myélomateux**

Le myélome multiple représente 80% des gammopathies monoclonales malignes et environ 10% des cancers hématologique et environ 2% de tous les décès par cancer (**Smith et al, 2013**). Le myélome multiple (MM) touche un peu plus d'hommes (45%) que de femmes (46%), l'âge médian au moment du diagnostic est d'environ 70 ans. D'autre part, il peut toucher les sujets jeunes avec un pourcentage de 2.8% (**Facon T, 2006**).

Nos résultats ont révélé une prédominance masculine est retrouvée avec un sexe ratio de 1.55, ces résultats sont similaire avec ceux publié dans la revue Algérienne d'hématologie en 2009 et qui avaient trouvé un sexe ratio de 1.4 (**Bekadja MA, 2009**).

L'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques représente le traitement de première ligne mais cela n'est abordable que chez les patients moins de 65 ans (**J.L Harousseau, 2009**). En effet, dans notre étude l'âge moyen des patients qui avaient subi une autogreffe de CSH est de 53 ans et ces résultats concordent avec la littérature.

D'autres parts, le suivi des patients après autogreffe révèle un risque continu de rechute pendant plusieurs années suivant l'autogreffe (**Bénédicte H, 2016**). Cependant, la majorité de nos patients sont dans un état de réponse complète suivi par un état de rechute. De plus, une étude réalisée par M Krejci a montré que 35% des patients étaient en réponse complète et 60% en rémission partielle (**Krejci M et al, 2005**).

Par ailleurs, une recherche a révélé que les patients traités par une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques avaient un risque de 24 % de progression de la maladie (**Balade J et al, 2003**).

Le sexe fait partie des critères de choix du traitement, l'analyse des données montre une corrélation très significative avec un  $p < 0.01$  entre le sexe du patient et la réponse thérapeutique après 100 jours suivant l'autogreffe. Nous avons noté une meilleure réponse thérapeutique chez les hommes.

La numération des cellules CD34+ représente aussi un critère de choix afin de déterminer la richesse de l'échantillon en progéniteurs hématopoïétiques (**Saparow RL et al, 2006**).

D'après l'analyse de données, il existe une corrélation très significative entre le nombre de cellules CD34+ et l'âge du patient. Les produits recueillis par cytophérèse contiennent en moyenne  $3.82 \times 10^6/\text{Kg}$  cellules de CD34+ avec un écart type de 2.02. Cependant, la valeur nécessaire est comprise entre  $2.5-5 \times 10^6/\text{Kg}$  et la valeur cible pour effectuer une double autogreffe est de  $6 \times 10^6/\text{Kg}$  (**Allan DS et al, 2002**).

Nous avons comparé nos résultats avec l'étude effectuée par J. Vorlicek et ses collaborateurs, le taux médian de cellules CD34+ perfusé était  $4.7 \times 10^6/\text{kg}$ , nos résultats concordent avec ceux de la littérature (**Vorlicek J et al, 2005**).

Nos résultats ont montré que le protocole de la cryothérapie influence significativement sur la médiane de survie après une greffe autologue de cellules souches hématopoïétiques.

D'autres parts, les études réalisées montrent que la cryothérapie orale est utilisée à des fins préventifs contre les mucites bucaux (**Joey Cet al, 2017**). 70% des patients recevant une autogreffe de cellules souches hématopoïétique développent une mucite bucale à cause de la chimiothérapie de conditionnement à forte dose de melphalant, les résultats obtenus par Joey et ces collaborateurs montrent que la cryothérapie est potentiellement efficace pour réduire la mucite bucale (**Joey C et al, 2017**).

La survie des patients atteints de myélome multiple s'est améliorée ces dernières années de façon très significative. L'analyse des résultats montre un taux de survie globale de 5 ans.

Les résultats obtenus par J. Vorlicek et ces collaborateurs montrent que la survie médiane est entre 29.5 et 68.8 mois, d'autre part la même étude a montré une corrélation significative entre la réponse thérapeutique après autogreffe et l'âge (**Vorlicek J et al, 2005**).

Par ailleurs, une étude réalisée par Shah et ces collaborateurs a montré une survie médiane de 31.7 mois (**Shah et al, 2012**). Une autre recherche qui a été faite par Blimark C et son équipe a révélé un taux de 24 mois pour la survie médiane (**Blimark C et al, 2011**).

De plus, une étude réalisée sur 91 patients a révélé un taux de 18 mois pour la survie globale (**Tricot G et al, 1995**). Par ailleurs, d'autres résultats trouvés par Fonseca et son équipe montrent une moyenne de survie globale comprise entre 7 et 10 ans (**Fonseca R et al, 2017**).

L'étude de HOVON démontre que la greffe des cellules souches autologues hématopoïétique est supérieure aux nouveaux agents pour le traitement de myélome multiple (**Kumar et al, 2012**).

### **C. Enquête ethnobotanique sur l'utilisation de pissenlit dans la région Ouest d'Algérie**

Le pissenlit est une plante médicinale qui possède de nombreux bienfaits, l'analyse de données montre que 70% des enquêtés ne connaissent pas la plante pourtant c'est une véritable bombe nutritionnelle. Cependant, cette plante est méconnue parce qu'elle ne pousse pas dans notre région d'étude.

Les plantes médicinales sont utilisées comme principale source de traitement chez 80% de la population des pays en développement (**Bodeker C et al, 2005**).

Dans cette plante comestible tout est utilisé fleurs, racines et feuilles. Les feuilles de pissenlit sont riches en minéraux, multiples vitamines, flavonoïdes, terpenoïdes, choline, glucosides amers, bêta-carotène et xanthophyles, d'autres part, les racines sont riches en glycosides amers, tanins, stérols, huiles volatiles, taraxacine, taraxacérines, triterpènes, asparagine et insuline (**Sheezan R, Bharti S, 2014**). Les préparations peuvent renfermer un seul composé ou bien un mélange des trois. L'examen des données a montré que la majorité des personnes utilisatrices de la plante utilisent les fleurs et racines par contre peu de personnes utilisent les feuilles. Cependant Il existe diverses manières de consommer et conserver les plantes. La majorité des études portent sur l'évaluation des extraits de feuilles et de racines (**Amin Mir M et al, 2015**). Le sondage effectué montre que la plante est utilisée après séchage.

Afin de faciliter l'administration du principe actif, différentes méthodes sont utilisées pour la préparation du pissenlit. L'infusion est la plus utilisée suivie par la macération, décoction et cataplasme. D'autres utilisateurs consomment les feuilles fraîches en salade.

Les utilisateurs de la plante dans notre région utilisent la plante avec des doses non précise, dont 39.20% par cuillère, 37.10% par poignées et 23.70% par pincée.

Depuis l'antiquité plusieurs personnes utilisent le pissenlit pour ces propriétés curatives surtout dans la médecine chinoise ou elle est utilisée exploitée pour traiter les affections hépatiques (**Fonyuy E W et al, 2016**). La plupart des enquêtés utilisent le pissenlit pour guérir les affections hématologiques suivi par les affections gastriques.

Les autorités de santé comme l'OMS, l'EMA, la commission européenne ou l'ESCOP, reconnaissent l'usage traditionnel de cette plante pour certains indications comme : augmentation de la diurèse lors des affections urinaires, soulagement des symptômes liés aux troubles digestifs bénins, antioxydant, anti-inflammatoire, antidiabétique et pleins d'autres effets thérapeutiques et diurétiques (**EMA, 2009 ; Schütz K et al, 2006**).

Depuis des siècles le pissenlit est utilisé pour stimuler la digestion (**Pizzorno JE, Murray MT, 1999**). D'autres parts, un groupe de patients souffrant de colite ont utilisé les racines de pissenlit en combinaison avec d'autres plantes, les résultats obtenus montrent une diminution des douleurs chez 96% des patients (**Chakurski I et al, 1981**). De plus, une étude réalisée par Jeon et al sur des rongeurs révèle que les extraits éthanoliques des parties aériennes réduisent le taux d'inflammation. Par ailleurs, d'autres études suggèrent que cette activité est due grâce à la présence des phénylpropanoïdes (**Hu C, Kitts DD, 2005 ; Yasukawa K et al, 1998**). Une synthèse bibliographique publiée en 2019 soulignent également que le pissenlit a des effets hépatoprotecteurs contre les agents chimiques grâce à ses effets antioxydant et anti-inflammatoire (**Mohaddese M, Mahboubi M, 2019**). Des résultats obtenus par Funke et al montrent que l'extrait aqueux des parties aériennes de *Taraxacum Offinale* inhibe l'action de  $\alpha$ -amylase avec un pourcentage 20-40% (**Funke I, Melzig MF, 2006**). Des résultats similaires ont été retrouvés par Amin Mir et al qui ont démontrés que l'extrait aqueux et méthanolique de pissenlit possède des activités inhibitrices de  $\alpha$  amylase et  $\alpha$  glucosidase (**Amin Mir M et al, 2015**).

Une recherche réalisée par Racz-Kotilla et al sur des souris montre qu'une consommation de 2g/kg de feuilles de pissenlit a une activité diurétique du moment que le pissenlit est riche en potassium (**Racz-Kotilla E et al, 1974**). De plus, la commission Allemande E confirme l'utilisation de pissenlit comme diurétique et aussi pour l'utilisation dans le cadre de traitement d'anorexie, dyspepsie et anomalies biliaires (**Blumenthal M et al, 1998**).

L'analyse statistique montre la différence des avis concernant les effets secondaires de la plante. En effet 43% disent que la plante n'a pas d'effets secondaire par contre 57% des personnes utilisatrices de la plante témoignent que la plante a des effets indésirables.

La majorité des utilisateurs de la plante témoignent que la plante à une efficacité importante avec un pourcentage de 61.60%, cependant 28.70% disent que la plante à une efficacité moyenne et seulement 9.70% ne sont pas satisfaits des résultats de la consommation de la plante.

Les études toxicologiques sur le pissenlit sont très limitées. Cependant, selon la composition chimique et l'utilisation de la plante, il n'existe pas d'effets indésirables. Jusqu'à maintenant aucun effet secondaire n'a été signalé. Le seul élément signalé est la possibilité de dermatites en cas de contact avec le latex du pissenlit (**EMA, 2009 ; Schütz K et al, 2006**). D'autre part, une étude qui a été réalisée par Akhtar MS et al sur des rats, ils ont évalué un taux de 3-6g/l pour une consommation de la plante entière (**Muhammad S A et al, 1985**).

#### **D. Caractérisation de la plante**

Le rendement en matière sèche est plus élevé dans les feuilles par rapport aux racines.

La composition phytochimique de la plante est clairement identifié dans plusieurs études, elle contient des composés phénoliques, des sucres et un complexe de nombreux vitamines (**Eric Y et al, 2009**). Elle contient aussi des alcaloïdes, des tanins et des flavonoïdes (**Abdul Kadir et al, 2012**).

Les études phytochimiques ont démontrés la présence des phénylpropanoïdes, polysaccharides (**Eric et al, 2019**), des flavonoïdes, des acides hydroxycimaniques, d'acide chlorogénique, des coumarines, les feuilles sont riches en citamines dont  $\beta$  carotène, elles contiennent également la choline et les oligo-éléments dont essentiellement le fer, le magnésium, le silicium, le sodium, le potassium, le cuivre, le zinc et le phosphore (**Tabassum F et al, 2018**). D'autres part, les racines sont riches en glycosides amers, tanins, stéroïls, huiles volatiles, taraxacine, taraxacérines, triterpènes, asparagine et insuline (**Sheezan R ; Bharti S, 2014**).

Les tests phytochimiques effectuées sur les extraits préparés ont révélé la présence des flavonoïdes, des terpenoïdes, des stéroïdes dans les deux parties de la plante (Feuilles et racines). Ces résultats sont confirmés par l'étude menée par Jassim et al (**Jassim et al, 2012**).

D'autre part, nous avons noté la présence des quinones et des anthraquinones dans les feuilles de pissenlit. Les alcaloïdes ont été présents uniquement dans les racines.

Un groupe de chercheurs ont évalué l'activité anti-inflammatoire du pissenlit in vitro. Ils ont pris comme référence pour la mesure de cette activité l'inhibition de la lyse de la membrane HRBC induite par l'hypotonie, les résultats montrent que l'extrait possède une activité anti-inflammatoire importante grâce à sa teneur en alcaloïdes, flavonoïdes et les terpenoïdes (**Amin Mir M et al, 2015**). De plus, les terpénoïdes ont été largement connue par leurs effets contre des cellules tumorales qui présentent la capacité d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses (**Hidayat et Fatmawati, 2016**).

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que la teneur en phénols totaux varie entre 39 mg/MS et 54 mg/g GAE. D'après les résultats obtenus nous avons conclu que les feuilles sont plus riches en phénols totaux par rapport aux racines. Les mêmes résultats ont été trouvés par Yansong Xue et ses collaborateurs (**Yansong X et al, 2017**). La richesse en phénols totaux a été confirmée par certains auteurs, pour Ahmed Saeed Khan et al les teneurs en phénols totaux varient entre 41 mg/g et 691.6 mg/g GAE et les teneurs maximales ont été trouvés dans l'extrait hydro-alcoolique (691.6 mg/g GAE) (**Ahmed S et al, 2019**). D'autre part, Milek et Jaroslav ont trouvé des quantités totales de  $362.14 \pm 6.76$  mg/g GAE (**Milek M et Jaroslav L, 2015**).

Les résultats obtenus par IVANOV I.G ont montré une quantité de  $33 \pm 0.57$  6 mg/g GAE dans l'extrait de feuilles (**Ivanov I.G, 2015**).

Par ailleurs, l'étude réalisée par Lee a montré une teneur de  $130 \pm 1.53$  (mg/100 MS) dans l'extrait éthanolique des feuilles de pissenlit (**Lee, H.-H. et S.-Y. Lee, 2008**), cette valeur est supérieure à celle retrouvé dans notre étude.

Les résultats obtenus montrent une teneur importante en flavonoïdes. Ces résultats sont similaires avec la littérature. Aberkane et ces collaborateurs ont déterminé une teneur en flavonoïdes de  $58.969 \pm 0.008$  (mgEQ/g) pour l'extrait obtenu par macération et une teneur de  $48.373 \pm 0.011$  (mgEQ/g) pour l'extrait obtenu par soxhlet (**Aberkane K, Bourenane E, 2019**).

Les flavonoïdes font partie des antioxydants, d'autre part, ils sont considérés comme antitumoraux, antispasmodiques, antiulcéreux et antidiarrhéique (**Dicarto, 1999**).

Notamment ils possèdent des propriétés vasculoprotectrice, antiallergique et anti-inflammatoire (**Ghedira, 2005**).

Par ailleurs, ils possèdent une activité antidiabétique et aussi ils préviennent la cataracte diabétique par inhibition de l'aldose réductase du cristalin (**Chaudhry PS et al, 1995**).

Les flavonoïdes peuvent lutter contre certains virus tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus (**Gonçalves JLS et al, 2001**).

Les tanins ont des propriétés hémostatiques (**Asquith et Butler, 1986**). Leurs propriétés vasoconstrictrices sur les petits vaisseaux approuve la recommandation de ces espèces pour le traitement de l'anémie et des hémorroïdes par les thérapeutes (**Bruneton, 1993 ; Sereme et al, 2008**). Les résultats obtenus ont montré une teneur importante en tanins dans les deux parties de la plante ce qui lui confère des propriétés curatives et préventives.

La méthode utilisée pour évaluer le pouvoir antioxydant permet de déterminer l'IC50 (la valeur de la concentration à 50% d'inhibition).

La capacité antioxydante des feuilles et des racines de pissenlit est de 2.12 mg/ml et 1.25 mg/ml respectivement. L'étude menée par Bourahla et ces collaborateurs a montré une valeur IC50 estimé à 2.81 mg/ml (**Bourahla B, Ougabe S, 2017**). Ces résultats sont en concordance avec ceux trouvés par Yansong et son équipe (**Yansong X et al, 2017**).

Une étude qui a été réalisée par Sumath M et Rana A sur des rats a montré que des extraits de pissenlit ont une activité antioxydante et diurétique importante (**Sumath M et Rana A, 2006**). Une recherche qui porte sur l'activité antioxydante montre que les flavonoïdes et des dérivés de l'acide coumarique contenu dans la fleur du pissenlit ont une forte activité antioxydante et ces résultats sont basés sur le test du DPPH et l'activité réductrice dérivée de la teneur phénolique du DFE (**Hu C et al, 2005**).

D'autre part, Colle D et ces collaborateurs soulignent que l'extrait de fruit de *Taraxacum Officinale* a une forte activité antioxydante qui permet la protection des tranches de cerveau de la mort cellulaire induite par SNP et cette activité est due à la présence des composés phénoliques (**Colle D et al, 2012**).

De plus, une autre étude met en évidence l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de feuilles du pissenlit qui ont été fractionné dans différents solvants. Les résultats de cette étude montrent que les fractions d'acétate d'éthyl et de butanol présentent une activité antioxydante élevée pour l'ensemble des tests par contre la fraction d'hexane avait une faible activité (**Tetty et al, 2014**). D'autres recherches, montrent la présence des composés phénoliques dans le pissenlit tels que : acide chicorique comme antioxydant en empêchant l'oxydation du collagène et les cellules et inhibe la pénétration des virus dans les cellules, et l'acide chlorogénique est cholagogue : son ingestion régulière aide l'écoulement de la bile et réduit ainsi les effets néfastes de la bile (**Singh A et al, 2008**).

L'analyse quantitative des oligo-éléments a été réalisée avec spectrophotomètre d'absorption atomique par flamme. La détermination des différentes concentrations de

molybdène, cuivre, fer, magnésium, manganèse, calcium et zinc a été effectuée par le biais des courbes de calibration en fonction de la concentration d'absorption.

Les résultats obtenus ont montré que les oligo-éléments sont présents en faible concentration dans les racines avec des taux qui varient entre 0.1 et ppm pour (zinc, manganèse, cuivre, magnésium et le fer. Par contre le calcium a été présent avec une teneur importante par rapport aux autres éléments (22,17 ppm). D'autre part, le molybdène a été absent dans notre échantillon.

La majorité des études ont été portées sur les feuilles. Les résultats obtenus par plusieurs équipes de recherches ont montré que les feuilles sont riches en oligo-éléments essentiellement en potassium (397 mg / 100 g de feuilles fraîches), calcium (26.3 mg/100 de feuilles fraîches), cuivre (0.067 mg /100 g de feuilles fraîche), fer (3.1 mg/ 100 g de feuilles fraîche), magnésium (13.2 mg/100 g de feuilles fraîches), manganèse (0.16 mg/ 100 g de feuilles fraîche), phosphore (66 mg/100 g de feuilles fraîches) et le zinc (0.2 mg /100 de feuilles fraîches) (Candais, 2019).

L'étude faite par Abdel Kadir et ces collaborateurs sur les feuilles de pissenlit a montré des concentrations élevées de potassium, calcium, sodium, fer) avec 185.1, 22, 19.5, 11.2 ppm, respectivement et de faibles concentrations de (zinc, cadmium, cuivre) pour 6.3, 1.3, 0.2 ppm respectivement (Abdul Kadir et al, 2012). D'autres rapports ont indiqué la présence de ces métaux dans cette plante en utilisant une méthode différente (Ertas, Ö.S et al, 2005 ; Królak, E, 2003).

Les résultats obtenus par spectrophotométrie d'émission ont révélé que la plante possède une quantité importante de sodium (28.475 µg/ml) et potassium (35.084 µg/l) et ceci concorde avec la littérature.

### **E. Evaluation de la toxicité aiguë des racines de pissenlit**

Le pissenlit est une plante médicinale qui possède des vertus exceptionnelles qui poussent les chercheurs à faire des études afin de l'intégrer dans le domaine pharmaceutique. Dans notre étude les signes relatifs à la toxicité aiguë d'extrait de racines du pissenlit sont un comportement anormal des rats et l'entrée dans un état comateux pour certains animaux suivant l'injection, des signes graves conduisant jusqu'à la mort de la moitié des rats du lot ont été enregistrés dès l'injection de 800mg/kg. Nous avons noté un taux de mortalité qui correspond à 100% pour la dose de 2000 mg durant les 24h qui suivent l'injection suivi par d'autres cas de mortalité dans les différents lots durant la première semaine d'observation.

La toxicité des extraits de plantes médicinales dépend de la voie d'administration, cependant des extraits peuvent être toxique par voie intrapéritonéale et non toxique par voie oral (**Michel B G et al, 2011**).

La DL50 d'extrait de racines de pissenlit (*Taraxacum Officinale*) correspond à la dose 1100mg/kg, elle a été calculé selon la méthode de KARBER et BEHRENS (**Karber et Behrens, 1935**).

Nous avons comparé nos résultats avec une autre étude qui a été réalisée sur des rats, ils ont évalué un taux de 3-6g/l pour une consommation de la plante entière (**Akhtar MS et al, 1985**). D'après la classification de Hodge et Sterner l'extrait de racines de pissenlit est classé dans la catégorie des substances faiblement toxique (**Hodge et Sterner, 1943**).

La créatinine et l'urée représentent les principaux indicateurs de la néphrotoxicité quoique l'urée sérique soit considérée comme un prédicteur plus fiable de la fonction rénale par rapport à la créatinine sérique (**Gisèle E-L et al, 2018**). D'après les résultats obtenus on note que l'extrait de racines de pissenlit n'a pas influencé sur le taux de la créatinine, ces résultats sont en concordance avec ceux publié par Harlan Laboratoire en 2008, nous avons remarqué une légère augmentation qui n'est pas statistiquement significative.

Par contre, l'analyse statistique a montré une augmentation significative du taux d'urée, ces résultats ont été comparés avec les normes du taux d'urée chez le rat wistar mâle et qui correspond à un taux de 7.48 mmol/l (**Harlan Laboratoire, 2008**). Par ailleurs, cette perturbation ne peut signifier une atteinte rénale tant que les valeurs de la créatinine sont dans les normes. .

Les transaminases représentent les principaux enzymes pour l'évaluation de la fonction hépatique, ALAT est une enzyme spécifique au foie, du fait c'est un indicateur sensible de l'hépatotoxicité tandis que ASAT on la retrouve dans le foie, le cœur et le muscle (**Michel B G et al, 2011**). L'évaluation de la variance des transaminases (ASAT, ALAT) est statistiquement significative. Plusieurs médicaments peuvent causer une augmentation des paramètres hépatiques, les médicaments impliqués ceux qui possèdent une activité anti-inflammatoire et antibiotique (**A.Santos et al, 2017**). ALAT et ASAT sont des enzymes présentes dans les cellules hépatiques, elles sont libérées dans le sang en cas de nécrose cellulaire hépatique et aussi dans le cas d'hépatotoxicité de certaines drogues (**Michel B G et al, 2011**). Les effets néfastes que peuvent causer les plantes sur le foie sont des hépatites cytolytiques, des manifestations veino-occlusives, des hépatites aiguës ou chroniques, de la stéatose et des fibroses pouvant aller jusqu'à des cirrhoses (**Fall M et al, 2011**). Dans cette étude nous avons

noté une augmentation des transaminases et surtout pour le taux du TGP dans les groupes traités avec une forte dose de l'extrait de racines et la forte dose a été observé chez le rat du groupe qui a reçu une dose de 1600mg/kg de l'extrait avec une valeur de TGP qui correspond à 350.1UI. Cependant cette toxicité peut être due à la présence des alcaloïdes dans l'extrait de racines de dandelion (**Abdul Kadir M et al, 2012**).

Plusieurs études ont montré l'effet hypoglycémiant du pissenlit (**Goksi et al, 2010**). D'après l'analyse des données nous avons enregistré un résultat statistiquement significatif. La diminution du taux de la glycémie a été observée chez les groupes qui ont reçu une forte dose de l'extrait. Une étude réalisée sur des souris a montré l'effet hypoglycémiant des extraits de pissenlit (**Roberta et al, 2001**). Des résultats similaires ont été obtenus par un groupe de chercheurs qui ont testé l'effet hypoglycémique des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et racines du pissenlit sur les rats albinos induit par la streptozotocine et nos résultats concordent avec la littérature (**Chinaka et al, 2002**). D'autre part, les travaux réalisés par (**Emir M et al, 2015**) révèlent que l'extrait méthanolique et aqueux de pissenlit présentent des propriétés inhibitrices de  $\alpha$  amylase et  $\alpha$  glucosidase. Par ailleurs, l'ensemble de ces études prouvent que le pissenlit a une forte activité antidiabétique. Cette activité est expliquée par la présence de l'insuline dans la composition chimique de la plante (**Tabassum F et al, 2018**). Du fait nos résultats confirment l'activité antidiabétique d'extrait de racines de pissenlit.

L'évaluation relative au profil lipidique a montré un résultat non significatif, en effet aucune perturbation n'a été observé pour l'ensemble des lots, nous avons comparé nos résultats avec les normes spécifiques aux rat wistar mâle publié par (**Harlan Laboratoire, 2008**).

Sur le plan hématologique aucun signe de toxicité n'a été remarqué, l'ensemble des variances sont dans les normes, nous avons comparé nos résultats avec les normes spécifiques au rat wistar publié par (**Harlan Laboratoire, 2008**).

## **F. Evaluation de l'activité anti-myélomateuse de Taraxacum Officinale**

Le myélome multiple est une hémopathie maligne qui se caractérise par la multiplication dans la moelle osseuse des plasmocytes tumoraux avec souvent la sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale (**Anne C, Michel A D, 2013**).

Le pissenlit est une plante médicinale utilisée en médecine alternative pour ses propriétés curatives et préventives qui restent variées. Cette plante fait partie de la famille des Asteraceae que l'on trouve naturellement en Europe, Amérique du Nord et du Sud et en Asie (**S.Quershi et al, 2017**) et qui fait partie de la liste des plantes médicinales d'intérêt pour SNS

(RENISUS) (**Faria.T et al, 2019**). Les bienfaits du pissenlit ont été démontrés depuis l'antiquité, surtout dans la médecine traditionnelle chinoise où elle est utilisée pour traiter les maladies hépatiques et aussi pour son activité antibactérienne (**Fonyiy et al, 2016**).

L'induction du myélome multiple a été faite avec succès par injection intraveineuse de benzène à travers la queue. Cette procédure a également été adoptée par Akanni E et ses collègues (**Akanni et al, 2012**). L'exposition au benzène est associée à une augmentation du risque de leucémie myéloïde aiguë, myélome multiple et lymphome non hodgkinien (**Schnatter AR et al, 2005**). La toxicité est liée à la dépression de la moelle osseuse, anémie aplasique, leucémie myéloblastique aiguë et la leucémie aiguë non lymphocytaire (**Sorahan T et al, 2005**). De plus, même l'exposition à faible dose peut affecter les globules blancs et la numération plaquettaire (**Lan Q et al, 2005**).

Dans notre étude, nous avons noté des signes sévères de toxicité liés à l'injection de benzène liés à certains cas de mort d'animaux (voir tableau N°43). Dans les groupes intoxiqués au benzène nous avons enregistré une perte de poids importante et un pourcentage de mortalité variant entre 12 et 37,5%. D'autre part, nous avons noté une augmentation des valeurs de gain de poids corporel chez les animaux atteints de myélome induit par le benzène traités avec des racines et des extraits combinés.

L'urée et la créatinine sont des indicateurs du fonctionnement rénal. L'urée ou bien l'azote uréique, lorsqu'il est mesuré dans le sang il représente le produit du métabolisme de protéines (**Jose H et al, 2014**). La créatinine est le produit de la dégradation de la créatine et de la phosphocréatine (**Jose H et al, 2014**).

L'atteinte rénale est fréquente au cours des proliférations plasmocytaires, elle résulte du dépôt tissulaire des immunoglobulines (**Greenblast et al, 1999**).

Dans le cas de myélome multiple les complications rénales étaient présentes chez 20-40% des cas (**Gaougou N et al, 2013 ; Younes M et al, 2014 ; Gavriatopoulou M, 2016**).

L'étude menée par Alia Abd El Shakour et al a montré que l'inhalation du benzène a eu un effet significatif sur le fonctionnement rénal (**Abd El-Shakour A et al, 2015**). Ceci a été confirmé par Jia et ses collaborateurs (**Jia C et al, 2008**).

Dans notre étude les résultats obtenus sont statistiquement hautement significatifs avec  $p < 0.001$ . Ces résultats sont en concordance avec la littérature. Nous avons noté une augmentation des taux d'urée et de créatinine par rapport au groupe témoin négatif. Après avoir commencé le traitement le taux d'urée a diminué de façon hautement significative. Par contre

le taux de créatinine est resté élevé, cette augmentation a été noté aussi chez les groupes qui ont reçu uniquement l'extrait de pissenlit ce qui explique que l'extrait est néphrotoxique.

L'évaluation des transaminases est statistiquement très significative  $p < 0.01$ . Nous avons noté une augmentation des deux paramètres (ASAT, ALAT) par rapport au groupe témoin, cette augmentation a été observée de façon hautement significative  $p < 0.001$  chez le groupe exposé au benzène ensuite au traitement avec l'extrait de racines de pissenlit.

Les résultats obtenus par Kyamamura et al ont montré que l'augmentation des transaminases n'était pas significative chez les groupes exposés au benzène par rapport au groupe témoin (**Kyamamura et al, 1999**). Par ailleurs, une étude effectuée sur des rats (*Rattus norvegicus*) qui ont été exposés à 100 mg/kg du benzène par une injection intrapéritonéale a montré une augmentation significative du taux ASAT. Par contre l'évaluation du taux d'ALAT n'a été pas significative (**Dere E, Ari F, 2009**). De plus, Alia Abd el Shakour et ses collaborateurs ont trouvé une augmentation significative des transaminases chez les rats wistar exposés au benzène sur une période de 14 jours (**Abd El Shakour A et al, 2015**).

Chez les sujets souffrant de myélome multiple l'augmentation des transaminases été dû à une infiltration plasmocytaire au niveau du foie (**Bhandri MS et al, 2007 ; Chaulgain et al, 2020**). Cependant, l'augmentation retrouvée dans notre étude est expliqué par une infiltration plasmocytaire chez les groupes rendus myélomateux et chez le groupe traité par l'extrait de racines cette augmentation peut être dû à la présence des alcaloïdes dans l'extrait administré. Cette dernière suggestion est supportée par les résultats auxquels nous avons aboutis lors de l'étude de toxicité d'extrait de racines de pissenlit.

L'étude réalisée par Choi T et al a démontré que les taux des lipides sériques sont associés au risque de myélome multiple (**Choi T et al, 2021**).

Dans notre étude les résultats obtenus montrent une augmentation très significative  $p < 0.01$  de triglycérides chez le groupe intoxiqué par le benzène et une diminution très significative chez les groupes traité par les extraits de pissenlit ce qui montre que le pissenlit possède des propriétés hypolipémiantes. Cette même observation a été faite par Michał et son équipe, ils ont démontré que les fractions de feuilles de pissenlit ont permis de diminuer le taux du cholestérol total et le taux des triglycérides (**Michal et al, 2020**). D'autres résultats ont montré que l'extrait aqueux de pissenlit a abaissé les concentrations totales de cholestérol et de triglycérides, alors qu'il augmentait le HDL-C sérique chez les rats diabétiques (**Cho S, Y et al, 2002**). Par ailleurs, un autre essai clinique montre que le pissenlit possède des propriétés

antiathérogène en diminuant le taux de la cholestérolémie (**Mohaddesse M, Mouna M, 2020**). Ceci supporte nos résultats.

La protéine C-réactive est une protéine qui est sécrétée au cours du processus inflammatoire en réponse à IL'6 inflammatoire de cytokine (**Sang Miguel et al, 2006**). L'augmentation de la CRP est présente dans de nombreuses maladies y compris le myélome multiple (**Tienhaara A et al, 1994**). Cette augmentation est due à la sécrétion des hépatocytes en réponse à des cytokines dérivées du myélome on activant les cellules myélomateuses pour favoriser l'ostéoclastogénèse et la destruction osseuse (**Yag et al, 2017**). Cependant, des taux élevés de la CRP sont en corrélation avec un mauvais pronostic dans le myélome multiple (**Tienhaara A et al, 1994**).

La CRP peut être considéré comme un paramètre pronostique pour remplacer la  $\beta_2$  microglobuline dans l'évaluation du myélome multiple (**Najjar SA, Al Tameemi WF, 2017**).

D'après l'analyse des données nous avons noté une augmentation hautement significative  $p < 0.001$  chez le groupe rendu myélomateux ceci concorde avec la littérature. Par contre chez les groupes traités par les extraits de pissenlits nous avons noté une augmentation chez 25% des rats. D'autre part, un groupe de chercheurs ont évalué l'activité anti-inflammatoire du pissenlit in vitro. Ils ont pris comme référence pour la mesure de cette activité l'inhibition de la lyse de la membrane HRBC induite par l'hypotonie, les résultats montrent que l'extrait possède une activité anti-inflammatoire importante grâce à sa teneur en alcaloïdes, flavonoïdes et terpenoïdes (**Amin Mir M et al, 2015**). Ceci a été confirmé par l'étude effectuée par Yansong Xue son équipe (**Yansong X et al, 2016**). Par ailleurs, d'autres études suggèrent que cette activité est due grâce à la présence des phénylpropanoïdes (**Hu C, Kitts DD, 200**).

La protidémie permet de mesurer le taux de protéine total dans le sang. La gammopathie monoclonale liée au myélome multiple est une cause bien connue de l'hyper-protidémie (**Kim et al, 2014**). Cependant, après l'analyse des données l'hyper-protidémie est statistiquement significative avec  $p < 0.05$  chez le groupe rendu myélomateux. Le taux de protéine total a diminué de façon significative chez le groupe traité par l'extrait combiné de pissenlit, chez le groupe traité par l'extrait de racines la différence n'est pas significative. Lorsque le taux d'Ig est important, l'hyperprotidémie peut être responsable d'un syndrome d'hyperviscosité et d'une hyper-volémie plasmatique. Différents symptômes sont alors observés comme un syndrome hémorragique par thrombopathie avec des ecchymoses, des épistaxis, des hémorragies intestinales. D'autres symptômes neurologiques comme des céphalées, des troubles de la

vision, des bourdonnements d'oreille ou une confusion peuvent accompagner le MM. Il se rencontre rarement dans le MM (2%) (**D. Gramont et al, 1990**).

Le taux d'albumine est un facteur pronostique important chez les patients atteint de myélome multiple (**Kim JE, et al, 2016**). L'hypo-albuminémie chez les sujets myélomateux a été constaté dans de nombreux travaux (**Kyle Ra et al, 2003 ; Riccardi et al, 1991 ; Gupta et al, 1995**).

L'évaluation du taux d'albumine a montré une hypo-albuminémie chez le groupe intoxiqué par le benzène, ces résultats sont statistiquement très significatif  $p < 0.01$ . Par contre, chez le troisième et le quatrième groupe nous avons constaté une amélioration hautement significative  $p < 0.001$ . 75% des rats traité avec l'extrait de racines de pissenlit été dans les normes tandis que 50% des rats traité avec l'extrait combiné avaient un taux normal.

L'électrophorèse des protéines sériques est l'examen de première intention pour diagnostiquer le myélome multiple (**Sang Miguel et al, 2016**).

Dans la présente étude nous avons utilisé l'électrophorèse capillaire pour déterminer le pic monoclonal, cette technique permet d'identifier les deux principaux types de protéines présentes dans le sérum qui sont l'albumine et les protéines globulines. Cinq catégories de globulines sont identifiés : alpha1, alpha2, bêta1, bêta2 et la fraction gamma (**Nayak BS et al, 2021**).

Dans le cas de myélome multiple, le tacet électrophorétique permet de déterminer un pic dans la zone gamma globuline, mais aussi parfois des bêta globuline voir des alphas 2 globuline. D'autre part, le pic monoclonal est parfois absent c'est le cas de myélome multiple qui sécrète que des chaînes légères (myélome à chaînes légères) (**Geipp et al, 2005 ; The IMWG, 2003 ; Kyle et al, 2003**). D'après les résultats obtenus par Madani et son équipe la migration dans la zone gamma globuline a été retrouvée chez 80% des cas (**Madani et al, 2009**). Ceci a été confirmé par l'étude réalisée par Bouferioua et ses collaborateurs (**Bouferioua et al, 2021**).

Cependant, dans notre étude chez les rats qui ont développé le myélome multiple nous avons constaté un pic dans la zone gammaglobuline avec un pourcentage de 75% et 25% dans la zone bêta2 globuline ces résultats sont similaires avec la littérature. D'autre part, nous avons constaté une amélioration très significative  $p < 0.01$  chez le groupe traité avec l'extrait de racines, 75% des rats étaient négatif et chez le groupe traité avec l'extrait combiné l'amélioration été à 50%.

L'effet hypoglycémiant du pissenlit a été discuté dans plusieurs études, les résultats obtenus par M. Emir et ces collaborateurs révèlent que l'extrait méthanolique et aqueux de pissenlit présente des propriétés inhibitrices de  $\alpha$  amylase et  $\alpha$  glucosidase (**Amin Mir M et al, 2015**). Cependant, des résultats similaires ont été trouvés par Jingwen L et al (**Jingwen L al, 2021**). De plus, un essai réalisé par Goksi et ses collaborateurs montre l'effet hypoglycémiant du pissenlit chez les personnes non diabétique (**Goksi et al, 2010**). Des résultats similaires ont été trouvés par un groupe de chercheurs qui ont évalué l'effet des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et racines du pissenlit sur les rats albinos induit par la streptozotocine (**Chinaka et al, 2002**). Cette activité est expliquée par la présence de l'insuline dans la composition chimique de la plante (**Tabassum F et al, 2018**). Une étude récente a montré que les patients myélomateux présentent un risque élevé de développer le diabète de type 2 (**Markus E et al, 2020**).

D'après les résultats obtenus nous avons enregistré des résultats statistiquement très significatifs, l'effet hypoglycémiant a été noté chez tous les groupes qui ont reçu les extraits de pissenlit. Ceci a été similaire avec les données de la littérature.

L'évaluation relative au profil hématologique a montré une perturbation très significative  $p < 0.01$  du taux de globules blanc. Nous avons observé une leucocytose chez les rats rendus myélomateux. Nous avons comparés nos résultats avec les normes spécifiques aux rats wistar publié par Harlan laboratoire (**Harlan laboratoire, 2008**). Des résultats similaires ont été observés chez des rats exposés au benzène à différentes doses (**Orisadiran P et al, 2019**).

Une recherche menée par Wan Hang et al a montré que la leucopénie a été retrouvée chez 40% des cas (**Wan H et al, 2018**). Ces résultats sont en concordance avec ceux retrouvé par Chuanying et son équipe (**Geng C et al, 2014**).

La perturbation des globules rouges été statistiquement très significative  $p < 0.01$ . Chez le groupe intoxiqué par le benzène 75% des rats avaient un taux supérieur aux normes. Par contre, chez les groupes traités nous avons observé une amélioration hautement significative  $p < 0.001$  et le taux des globules rouges s'est normalisé. Nous avons comparé nos résultats avec ceux d'Harlan laboratoire (**Harlan laboratoire, 2008**).

L'anémie est présente chez la moitié des patients et peut être révélatrice du myélome multiple. Cette anémie est due à l'envahissement médullaire par les plasmocytes malins (**Silvertis et al, 2002**). Cependant, chez les patients qui obtiennent une rémission complète généralement l'anémie se normalise (**Ludivig et al, 2004**).

L'anémie survient chez 60 à 80% des patients atteints de myélome multiple non traité, généralement elle est associée à une hypoferrinémie (**Sanjai S et al, 2008**). De plus, l'anémie s'est avérée être un facteur de mauvais pronostic (**Moshe M, 2003**).

Dans notre étude le taux d'hémoglobine a été inférieur aux normes chez les rats rendus myélomateux (groupe N°2). Des résultats similaires ont été retrouvés par Wiester MJ et son équipe (Wiester MJ et al, 2002).

Chez les groupes intoxiqués par le benzène et qui ont reçu le traitement (groupe N°3, groupe N°4) nous avons constaté une augmentation significative  $p < 0.05$  d'hémoglobine.

Une étude menée par Mehrdad M et Narges R a révélé que les extraits hydroalcooliques de pissenlit ont permis d'augmenter le taux d'hémoglobine chez les souris (**Modaresi, M, Resalatpour, N, 2012**).

Les résultats obtenus montrent que les groupes exposés au benzène ont un taux de plaquettes inférieur aux normes. Les mêmes résultats ont été trouvés par d'Azevedo et son équipe (**d'Azevedo PA et al, 1996**). Une autre étude effectuée sur des rats a montré une diminution de la numération plaquettaire (**Gresele et al, 2010**). Ces résultats sont confirmés par ceux d'Orisadiran et al (**Orisadiran P et al, 2019**). D'autre part, la même observation a été notée chez les patients atteints de myélome multiple (**Sarfraz H et al, 2020**).

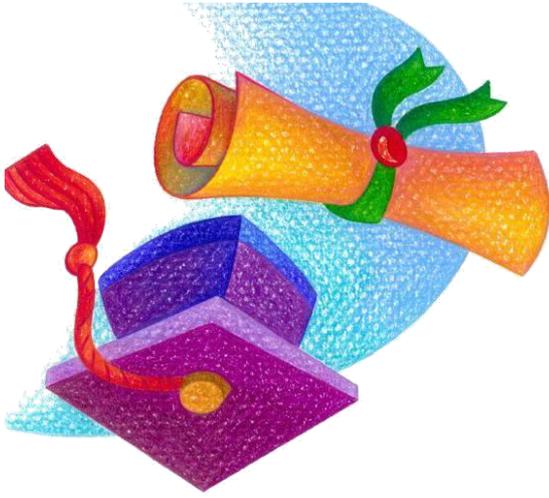
Chez les groupes traités par les extraits de pissenlit, nous avons noté une augmentation significative  $p < 0.05$ , 50% des rats avaient un taux normal de plaquettes. Nous avons pris comme références les normes spécifiques aux rats wistar publiées par Harlan laboratoire (**Harlan laboratoire, 2008**). Une expérimentation menée par M. A.M. A. Thijssen et son équipe montre que les acides gras insaturés présents dans le pissenlit comme l'acide linoléique permettent d'augmenter le taux de plaquettes sanguines (**M. A.M. A. Thijssen et al, 2005**).

L'analyse du frottis sanguin reste un examen indispensable pour le diagnostic du myélome multiple. Il permet d'identifier les cellules pathologiques de façon précise. Dans notre étude l'analyse du frottis sanguin a montré la présence des hématies en rouleaux, anémie normocytaire normochrome non régénérative. De plus, nous avons observé des plasmocytes circulants entre les rouleaux érythrocytaires.

Les mêmes observations ont été faites par Naseeruddin Sheik et ses collaborateurs chez les patients atteints de myélome multiple (**Naseeruddin S et al, 2019**).

La formation des rouleaux érythrocytaires est due à l'hypergammaglobulines. Ce phénomène est fréquent chez plus de 60% des patients myélomateux (**Kyle et al, 2003 ; San Miguel et al, 2006**).

Le myélogramme est un examen clé pour le diagnostic de myélome multiple. Dans la présente étude le myélogramme a montré une moelle envahie de plasmocytes. Ces plasmocytes observés avaient des critères de malignité. Il s'agissait des plasmocytes avec une multinucléarité, des plasmocytes binucléés et des plasmocytes avec cytoplasme flammé. Les mêmes observations ont été observées dans de nombreux travaux (**B.Ribourtout M, Zandecki, 2015 ; Bouferiouat et al, 2021 ; Naseeruddin Sheik et al, 2019**).



# CONCLUSION



Le myélome multiple est une affection rare qui se caractérise par son polymorphisme aussi bien sur le plan clinique que biologique, son diagnostic est simple, fondé sur la présence d'une infiltration plasmocytaire médullaire maligne, d'un pic monoclonal et d'une atteinte organique pouvant être attribuée à la prolifération plasmocytaire.

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'activité anti-myélomateuse de Taraxacum Officinale (Pissenlit) afin d'améliorer la prise en charge des patients atteints de myélome multiple. Pour cela nous avons réalisé plusieurs études préliminaires dont le but d'avoir une base de données sur l'intérêt des dosages sériques et urinaires ainsi que les différentes stratégies thérapeutiques mise en œuvre pour le diagnostic et le suivi de ces patients et d'autre part déterminer la place de l'autogreffe contre le myélome multiple.

Nos évaluations statistiques ont montré que le myélome multiple est une pathologie qui touche les sujets âgés avec une certaine prédominance masculine. D'autre part, nos résultats ont révélé que la majorité des patients avaient un pic monoclonal dans la zone gamma globuline suivi par un pic dans la zone bêta globuline. De plus, l'hypoalbuminémie, l'hypercalcémie et l'hyperprotidémie sont fréquentes chez les patients atteints de myélome multiple. Dans notre étude la répartition des patients en fonction de type de chaîne légère a montré une prédominance de la chaîne légère de type Kappa avec un pourcentage de 66% contre 34% de chaîne légère de type lambda. Sur le plan hématologique nos résultats ont révélé la présence d'anémie avec un pourcentage de 90%. La leucopénie et la thrombopénie étaient retrouvées respectivement chez 30% et 40% de nos patients. Sur le plan cytologique, le myélogramme a montré une moelle riche envahie à plus de 10% des plasmocytes chez 90% des patients, parmi lesquels 84% avaient des plasmocytes dystrophiques.

Bien que la greffe des cellules souches hématopoïétiques est actuellement la thérapie standard pour le traitement du myélome multiple chez les patients moins de 65 ans, nos résultats ont confirmé que le taux de réponse complète est très élevé par rapport au taux de mortalité avec un pourcentage de 32% pour le statut post greffe 1 et 49.5 % pour le statut à 100 jours. La corrélation entre la cryothérapie et la survie globale après autogreffe est hautement significative, les résultats obtenus montrent une survie globale de 5 ans. D'après l'analyse des données on note que l'âge et le sexe du patients représente les critères de choix pour le traitement.

L'analyse des différents composants de Taraxacum Officinale a montré la présence des flavonoïdes, des phénols totaux, des tanins, des terpenoïdes, des saponines, des quinones et

des anthraquinones. D'autre part, nos résultats ont confirmé que le pissenlit possède une activité antioxydante importante.

Le pissenlit est une plante dont les bienfaits ont été découvertes depuis l'antiquité, cette plante oubliée de nos jours, est pourtant une excellente plante médicinale aux vertus exceptionnelles. Cette enquête pharmacobotanique a révélé une multitude de résultats sur les parties utilisées, le mode de préparation ainsi que les maladies traitées.

Le recours à l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement de certaines pathologies est largement répandu dans le monde grâce à leurs compositions chimiques riches en composés phénoliques, minéraux et multiples vitamines. Malgré tous les effets curatifs et préventifs que possèdent ces plantes, ces dernières peuvent causer des effets néfastes. Nos résultats ont montrés l'existence d'anomalies causées par l'extrait de racines de pissenlit. Ceci a été démontré par une hépatotoxicité, nous avons constaté une augmentation significative des transaminases. Cette plante induit une augmentation significative du taux d'urée par contre l'augmentation du taux de la créatinine n'était pas significative. Cependant, une diminution du taux de la glycémie a été observée chez les rats qui ont reçu une forte dose de l'extrait. De plus, nous avons remarqué que l'extrait administré aux rats ne cause aucune perturbation sur le plan hématologique et lipidique. De plus, l'extrait de racines de pissenlit est classé dans la catégorie des substances faiblement toxique.

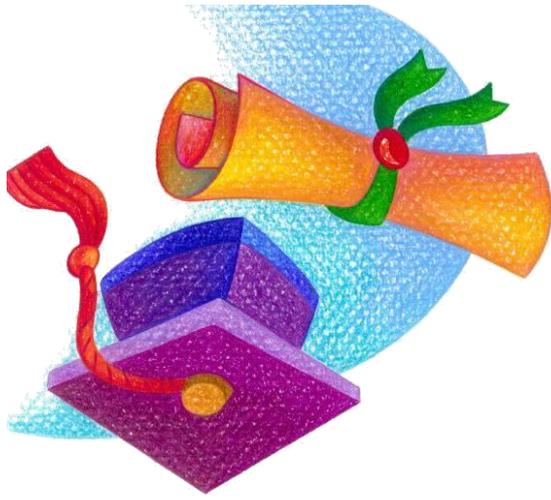
L'évaluation de l'activité antimyéломateuse du pissenlit était l'objectif principal de notre étude. L'induction du myélome multiple chez les rats wistar mâles a été effectuée avec succès. Nous avons enregistré une altération de la fonction rénale et hépatique. D'autre part, les résultats obtenus ont montré un pic monoclonal dans la zone gamma et bêta 2 globuline. De plus nous avons enregistré une hypoalbuminémie, une hyperprotidémie et aussi des perturbations du profil lipidique. L'analyse des données a montré des résultats significatifs sur l'ensemble des tests biologiques effectués chez les rats traités avec l'extrait de racines et l'extrait combiné. Cependant, L'électrophorèse des protéines sérique a montré que 75% des rats traités avec l'extrait de racines avaient un profil normal contre 50% des rats traités avec l'extrait combiné. Sur le plan hématologique 50% des rats avaient un taux d'hémoglobine normal, concernant le taux de globules blancs et de plaquettes nous avons noté une leucopénie et une thrombopénie chez le groupe rendu myélomateux. Par contre les transaminases sont restées élevé par rapport au groupe témoin négatif. Chez le groupe rendu myélomateux la CRP été positif avec un pourcentage de 100% contre 25% chez les rats traités avec les deux extrait.

D'après les résultats issus de différentes expériences, nous avons conclu que le pissenlit possède une activité anti-myélomateuse importante. Nous avons enregistré une amélioration très significative aux niveaux des paramètres biochimiques, lipidiques et hématologiques.

#### **Recommandations et perspectives :**

A la lumière des résultats obtenus et de nos conclusions et pour faire face à ce problème de santé publique nous avons tracé les recommandations et les perspectives ci-dessous :

- ✚ Essayer d'améliorer la prise en charge des patients afin d'augmenter le taux de survie et ce en sensibilisant les médecins généralistes à travers un programme de dépistage précoce du myélome
- ✚ Rechercher d'autres méthodes et techniques plus fiables pour le diagnostic de cette pathologie
- ✚ Evaluer les risques et les avantages des différents traitements utilisés pour limiter l'évolution, guérir le myélome multiple et identifier les doses nécessaires pour atteindre un bénéfice thérapeutique et aussi suivre les patients pour les effets secondaires, indésirables et systémiques
- ✚ Rechercher d'autres substances bioactives qui pourraient inhiber la croissance des cellules myélomateuses.
- ✚ La poursuite de l'évaluation de l'activité anti-myélomateuse de *Taraxacum Officinale* in vitro



# *Références bibliographiques*



## A

- ✚ A.M. A. Thijssen, G.Hornstra, and R. P.Mensink. (2005). Stearic, oleic, and linoleic acids have comparable effects on markers of thrombotic tendency in healthy human subjects. *Journal of Nutrition*, vol. 135, no. 12, pp. 2805–2811, 2005.
- ✚ A.M. A. Thijssen, G.Hornstra, and R. P.Mensink. Stearic, oleic, and linoleic acids have comparable effects on markers of thrombotic tendency in healthy human subjects. *Journal of Nutrition*.2005; vol. 135, no. 12, pp. 2805–2811, 2005
- ✚ Abd El-Shakour Alia, Ahmad S. El-Ebiarie , Yasser H. Ibrahim1 , Ahmed E. Abdel Moneim , Asmaa M. El-Mekawy. (2015). Effect of benzene on oxidative stress and the functions of liver and kidney in rats. *J Environ Occup Sci*. Vol 4 • Issue 1
- ✚ Abderrahmane BENSEGUENI. (2007). Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxygénase et la cyclooxygénas. Thèse de Doctorat d'Etat en Biochimie Appliquée. Université Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biochimie-Microbiologie
- ✚ Abdul Kadir M. N. Jassim, Safanah Ahmed Farhan, Omar Mohammed Noori. (2012). Identification of Dandelion *Taraxacum officinale* Leaves Components and Study Its Extracts Effect on Different Microorganisms. *Journal of Al-Nahrain University*. Vol.15 (3), pp.7-14.
- ✚ Ahmad Saeed Khan, Khalid Arif, Bushra Munir, Shumaila Kiran, Fatima Jalal, Naseem Qureshi, Syeda Mona Hassan, Gul Afshan Soomro, Arif Nazir, Abdul Ghaffar, Muhammad Asif Tahir, Munawar Iqbal. (2019). Estimating Total Phenolics in *Taraxacum officinale* (L.) Extracts. *Pol. J. Environ. Stud*. Vol. 28, No. 497-501.
- ✚ Akanni EO, Alli OAT, Oloke JK. (2012). Anti-leukemic and immunomodulatory effects of fungal metabolites of *Pleurotus pulmonarius* and *Pleurotus ostreatus* on benzene-induced leukemia in Wistar rats. *Korean J Hematol*. 47(1):67–73
- ✚ Akanni, Olufemi & Faremi, Ayodeji & Aminat, Agboola & Akanni, Racheal & Bamisaye, Oluwaseyi. Abstract 132: African polyherbal formulation alleviates benzene-induced leukemia in Wistar rats. *Cancer Research*. 2017; 77. 132-132. 10.1158/1538-7445.AM2017-132.
- ✚ Ali, Z. (1989). *Medicinal Plants*, Tehran University Press, Tehran, Iran.

- ✚ Abd El-Shakour Alia , Ahmad S. El-Ebiarie , Yasser H. Ibrahim<sup>1</sup> , Ahmed E. Abdel Moneim , Asmaa M. El-Mekawy. (2015). Effect of benzene on oxidative stress and the functions of liver and kidney in rats. *J Environ Occup Sci.* Vol 4 • Issue 1
- ✚ Amin Mir, S. S. Sawhney, M. M. S. Jassal (2015). In-vitro antidiabetic studies of various extracts of *Taraxacum officinale*. *The Pharma Innovation Journal* 2015 ; 4(1): 61-66.
- ✚ Anne Cairolì, Michel André Duchosal. (2013). Myélome multiple : diagnostic et perspective thérapeutiques. *Forum Med Suisse* ; 13(38) :746-751
- ✚ ANSM. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Thalidomide et risque de cancer secondaire hématologique. [www.ansm.sante.fr](http://www.ansm.sante.fr). avril 2013.
- ✚ Arnulf Bertrand. (2013). *La Revue du Praticien* VOL.63 : Myélome multiple des os.
- ✚ Asquith ,T.N.; Butler, L.G.( 1986). Interaction of condensed tannins with selected protochemistry.25(7),1591-1593.
- ✚ Avet Loiseau H, Facon T, Grosbois B, Magrangea F, RappMG, Harousseau JL et al. Oncogenesis of multiple myeloma : 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history, immunological features, and clinical presentation. *Blood* 2002 ; 99 : 2185-2191.
- ✚ Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, Charbonnel C, Garban F, Hulin C, Leyvraz S, Michallet M, Yakoub-Agha I, Garderet L, Marit G, Michaux L, Voillat L, Renaud M, Grosbois B, Guillemin G, Benboubker L, Monconduit M, Thieblemont C, Casassus P, Caillot D, Stoppa AM, Sotto JJ, Wetterwald M, Dumontet C, Fuzibet JG, Azais I, Dorvaux V, Zandecki M, Bataille R, Minvielle S, Harousseau JL, Facon T, Mathiot C (2007). Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Blood*, 109:3489-3495.

## B

- ✚ B. Ribourtout M, Zandecki. (2015). Plasma cell morphology in multiple myeloma and related disorders Morphologie plasmocytaire au cours du myélome multiple et des gammopathies monoclonales. *Morphologie*. Volume 99, Issue 325, Pages 38-62, ISSN 1286-0115
- ✚ Barham D. and Trinder P. (1972). An improved color reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. *Analyst*, 97:142–5.

- ✚ Bataille R, Boccadoro M, Kelein B, Durie B, Pileri A. C reactive and beta-2-microglobulin produce a simple and powerful myeloma staging system. *Blood* 1992; 80 (3): 733-7.
- ✚ Beaudreuil J, Cohen-Solal M, Dore MX et al. (1996). « Sécrétion de peptide apparenté à la parathormone au cours du myélome ». *Rev. Rhum.* 63 (7-8) :248-278.
- ✚ Bekadja MA. (2009). (Reporteur du groupe Algérien du Myélome). Approche épidémiologique nationale. *Revue Algérienne d'hématologie.*
- ✚ Bénédicte Hivert. Thèse de doctorat UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2 « L'allogreffe dans le myélome : étude rétrospective multicentrique sur les 10 dernières années. 13 septembre 2012.
- ✚ Bevin A, Clare, M.S, Richard S, Conroy, Ph.D, Kevin Spelman, Ph.D (Cand) (2009). The diuretic in human subjects of an extract of *Taraxacum Officinale folium* over a single day. *The journal of alternative and complementary medicine.* Vol 15, Number8, pp.929-934.
- ✚ Bezieau S, Devilder MC, AvetLoiseau H, Mellerin MP, Puthier D, Pennarun E et al. (2001). High incidence of Nand K-Ras activating mutations in multiple myeloma and primary plasma cellleukemiaatdiagnosis. *Hum Mutat ; 18 : 212-224.*
- ✚ Bhandari MS, Mazumder A, Vesole DH (2007). Liver involvement in multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma.* Sep;7(8):538-40. doi: 10.3816/clm.2007.n.039. PMID: 18021472.
- ✚ Bladé J et al. (1998). Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and hematopoietic stem cell transplantation. Myeloma subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Hematol ; 102: 1115- 23.*
- ✚ Boccaccio C, Haioun C. *Greffes de cellules souches hématopoïétiques.* MASSON, 2007, 165 p.
- ✚ Bordessoule. (2013). Certificat d'Hématologie, objectif ECN n°166 : Myelome multiple. Université de Limoges.
- ✚ Boufrioua El Ghali, Oujidi Mohammed, Yahyaoui Hicham, Ait Ameer Mustapha, Mohamed Chakour. (2021). Le myélome multiple : les particularités diagnostiques, thérapeutiques et pronostiques de 123 cas colligés à l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech. *PAMJ Clinical Medicine.*5(70). 10.11604/pamj-cm.2021.5.70.20639

- ✚ Boulet L, Van Noolen L, Bosson C, Faure P, Corne C. Mise au point et validation en portée B selon les recommandations du Cofrac d'un dosage de pyruvate et de corps cétoniques sur un automate ouvert. *Ann Biol Clin.* 2014 ; 72(3) : 312-20.
- ✚ Brown LM, Linet MS, Greeberg RS, et al(1999). Multiple Myéloma and familyhistory of cancer among blacks and whites in the U.S . *Cancer* ; 85 (11) : 2385-90.
- ✚ Bruneton, J.( 1993). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Technique et Documentation-Lavoisier, Paris, 915.*
- ✚ Bruno, L. Giaccone, M. Rotta, K. Anderson, et M. Boccadoro. (2005). « Noveltrageddrugs for the treatment of multiple myeloma : frombench to bedside », *leukemia*, vol. 19, no 10, p. 1729-1738.

### C

- ✚ C.Hu, D.D.Kitts (2005) Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro. *Phytomedicine* Volume 12, Issue 8, 2 August 2005, Pages 588-597
- ✚ Candais. (2019). *Le retour à la nature avec la cueillette de plantes sauvages alimentaires : bienfaits ou dangers. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Nantes.*
- ✚ Cantley L.C., Auger K.R., Carpenter C., Duckworth B., Graziani A., Kapeller R. and Soltoff S. Oncogenes and signal transduction. *Cell* 65, issue 5 (1991) 914.
- ✚ Chaibi P, Merlin L, Martin Y et al, 2000. « Myélome et disglobulonémie monoclonale ». *La revue de Gériatrie.* 25 (4) : 255
- ✚ Charles River. (1982). Baseline haematology and clinical chemistry values for Charles River Wistar rats CRL as a function of sex and age. *Charles River Techn. Bull.* ; 1(2).
- ✚ Charles ZARNITSKY. (2015). *Myélome Multiple Actualités diagnostiques et thérapeutiques. Service de rhumatologie.*
- ✚ Charlot-Lambreacht I ; Salmon J.H ; Ganieux-Lemoussu L ; Brochot P ; Eschard J.P. (2011). *Myélome multiple .EMC (Elsevier Masson SAS, Paris, Appareil locomoteur, 14-027-B-10, P : 1-12*
- ✚ Chaudhry PS, Cabrera J, Juliani HR, et al.(1995) Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin.*Biochem Pharmacol.*32 (13): 1995-8
- ✚ Cherifi M. *L'apport de la biochimie au diagnostic clinique. Alger : HOUMA Edition ; 2005.*

- ✚ Chinaka Nnamdi C, Uwakwe A, Chuku L. Hypoglycemic effect of Aqueous and ethanolic extracts of Dandelion (*Taraxacum Officinale* F.H .WIGG) leaves and roots on streptozotocin. Induced albinos rats. GJRMI, Volume 1, Issue 6, June 2012, 211–217
- ✚ Cho, S.Y, Park, J.Y, Park, E.M, Choi, M.S, Lee, M.K, Jeon, S.M, Jang, M.K, Kim, M.J, Park, Y.B. (2002) Alteration of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. Clin. Chim. Acta 2002, 317, 109–117.
- ✚ Choi, T., Choi, I. Y., Han, K., Jeong, S. M., Yoo, J. E., Rhee, S. Y., Park, Y. G., & Shin, D. W. (2021). Lipid Level, Lipid Variability, and Risk of Multiple Myeloma: A Nationwide Population-Based Study of 3,527,776 Subjects. *Cancers*, 13(3), 540. <https://doi.org/10.3390/cancers13030540>
- ✚ Christian Berthou. (2004). Myélome multiple. File://L:/MM/Myéломemultiple.html
- ✚ Chütuz, R. Carle, A. Chieber. (2006). *Taraxacum* a review on its phytochemical and pharmacological profile. *J.ethnobotanical*, vol 107, N°3, p.313-323.
- ✚ Colle D, Arantes LP, Gubert P, Sônia Cristina Almeida da Luz, Margareth Linde Athayde, João Batista Teixeira Rocha, Félix Alexandre Antunes Soares (2012). Antioxidant properties of *Taraxacum officinale* leaf extract are involved in the protective effect against hepatotoxicity induced by acetaminophen in mice. *J Med Food*.15(6):549-556. doi:10.1089/jmf.2011.0282
- ✚ Corre, E. Labat, N. Spagnolle, P. Hébraud, H. Avet Loiseau, M. Roussel, A. Huynh, M. Gadelorge, P.Cordelier, B. Klein, et others (2012). « Biocativity and prognostic significance of growth differentiation factor GDF 15 secreted by bone marrow mesenchymal stem cells in multiple myeloma », *Cancer Res* ; vol. 7, no 6, p. 1395-1406.

## D

- ✚ D. Smith, K. Yong, « Multiple myeloma », *BMJ*. 2013 ; vol. 346, no jun26 2, p. f3863-f3863, juin
- ✚ D’Azevedo PA, Tannhauser M, Tannhauser SL, Barros HM. Hematological alterations in rats from xylene and benzene. *Vet Hum Toxicol*. 1996 Oct;38(5):340-4. PMID: 8888536.
- ✚ Daudignon A, Quilichini B, Ameye G, Poirel H, Bastard C, Terré C. Place de la cytogénétique dans la prise en charge du myélome multiple : actualisation par le Groupe

francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). Ann Biol Clin 2016 ; 74(5) : 588-95 doi:10.1684/abc.2016.1178.

- ✚ Denis Rivier. (2012). Chaînes légères libres d'immunoglobulines et gammopathies Utilité du dosage dans le sérum, Forum Med Suisse ;12(29-30):585-592
- ✚ Dere E, Ari F. (2009). Effect of Benzene on liver functions in rats (*Rattus norvegicus*). Environ Monit Assess. 154(1-4):23-7. doi: 10.1007/s10661-008-0374-7. Epub 2008 Jun 20. PMID: 18566902.
- ✚ Durie BGM et al. (2006) International uniform response criteria for multiple myeloma. Leukemia ; 20: 1467-73.
- ✚ Dussol B, Jourde-Chiche N. Fonction rénale : comment la mesurer ? Comment interpréter les mesures ? .EMC, Traité de Médecine Akos. 2009 ; 1-1224.

### E

- ✚ EL KHALIFA YOUSSE. (2017). MYELOMEMULTIPLE : EXPERIENCE DU SERVICE MEDECINE INTERNE HMA HOPITAL MILITAIRE AVICENNE MARRAKECH,
- ✚ El Mezouar L. (2010). Myélome multiple (à propos de 58 cas). Thèse de Médecine N° 060 : 199p.
- ✚ EMA (European Medicines Agency). Thalidomide Celgene. EMA/740933/2015.
- ✚ Eric Yarnell, ND, RH (AHG), Kathy Abascal, JD, RH (AHG) (2009). Dandelion (*Taraxacum Officinale* and *T monogolicum*). Integrative Medicine. Vol, 8, No, 2.
- ✚ Ertas, Ö.S.; Aktas H.F. and Hazedaroglu, M.Z., "Analysis of Sodium and Potassium Levels in *Taraxacum officinale* by Flame Emission Photometry", Acta Pharm Turcica, 47, 2005, 127-130.

### F

- ✚ Facon T et al. (2002). Anémie du myélome multiple. Incidence, mécanismes et prise en charge thérapeutique. Oncologie ;4:106-110.
- ✚ Facon T, Thierry, Yakoub-Agha, Ibrahim, Leleu, Xavier. Myélome multiple. (2006). EMC hématologie.10.1016/s1155-1984(03)00047-5. 13-014-E-10.
- ✚ Faria T.C, Nascimento C. C. H. C, Vasconcelos S. D. D. De, Stephens P. R. S, Saranraj P, Barreto A. S, Diré G.F. (2019). Literature Review on the Biological Effects of *Taraxacum officinale* Plant in Therapy. Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development. 7(3):94-99

- ✚ Feuillard M. (2000). Raphaël, Différenciation lymphocytaire B et lymphomes B périphériques » *Hématologie*, vol. 6, no 5 , p 345-59, 2000.
- ✚ Fonseca R, Barlogie B, Bataille R, Bastard C, Bergsagel L, Chesi M, Davies FE, Drach J, Greipp PR, Kirsch IR, Kuehl WM, Hernandez JM, Minvielle S, Pilarski LM, Shaughnessy JD, Stewart AK, Avet-Loiseau H (2004) Genetics and cytogenetics of multiple myeloma: a workshop report. *Cancer Research*, 64:1546-1558.
- ✚ Fonyuy E Wirngo, Max N Lambert, Per B Jeppesen (2016) The Physiological Effects of Dandelion (*Taraxacum Officinale*) in Type 2 Diabetes. *Summer-Fall*; 13(2-3): 113–131.
- ✚ Fouquet G, Snell KI, Guidez S, Schraen S, Boyle E, Renaud L, Desmier D, Machet A, Moya N, Systchenko T, Gruchet C, Decaux O, Arnulf B, Fohrer C, Richez V, Kolb B, Macro M, Karlin L, Royer B, Pegourie B, Hebraud B, Caillot D, Perrot A, Moreau P, Facon T, Avet-Loiseau H, Dejoie T, Hulin C, Harding S, Leleu X. Heavy . (2018). light chain analysis to assign myeloma response is analogous to the IMWG response criteria. *Leuk Lymphoma*. 59(3):583-589. doi: 10.1080/10428194.2017.1339876. PMID: 28697637

## G

- ✚ G. Durie et S. E. Salmon, « A clinical staging system for multiple myeloma correlation of measured myeloma cell mass with presenting », *Cancer*, vol. 36, no 3, p. 842–854, 1975.
- ✚ Gaougou N, Bahri L, Quessar A, Benchekroun S, El Bakkouri J, Riyad M, Fellah H et al. (2013) Présentation épidémiologique, clinique, biologique et pronostique du myélome multiple à Casablanca (Maroc). *J Afr Cancer* . Décembre 2013. PubMed| Google Scholar
- ✚ Gardais J, Genevieve F, Foussard C, Delisle V, Zandecki M (2001) Is there any significance for intracellular crystals in plasma cells from patients with monoclonal gammopathies? *European Journal of Haematology*, 67:119-122.
- ✚ Gavriatopoulou M, Terpos E, Kastritis E, Dimopoulos MA. (2016). Current treatments for renal failure due to multiple myeloma. *Expert Opin Pharmacother*. 17(16): 2165-2177. PubMed| Google Scholar.
- ✚ Geng, C., Hou, J., Zhao, Y., Ke, X., Wang, Z., Qiu, L., Xi, H., Wang, F., Wei, N., Liu, Y., Yang, S., Wei, P., Zheng, X., Huang, Z., Zhu, B. and Chen, W.-M. (2014), A multicenter, open-label phase II study of recombinant CPT (Circularly Permuted

- TRAIL) plus thalidomide in patients with relapsed and refractory multiple myeloma. *Am. J. Hematol.*, 89: 1037-1042. <https://doi.org/10.1002/ajh.23822>
- ✚ Ghrieb Soumia, MEBARKI Fatma. (2019). ETAT DES LIEUX DU PLAN CANCER EN ALGERIE 2014- 2019. UNIVERSITE DE BLIDA 1 FACULTE DE MEDECINE DEPARTEMENT DE PHARMACIE.
  - ✚ Godin-ribuot D. (2012). Mesure de la fonction rénale : la clairance rénale. UE3-2 – Physiologie rénale. Université Joseph Fourier –Grenoble.
  - ✚ Goksu. E, Eken.C, Karadeniz.O (2010). First report of hypoglycemia secondary to dandelion (*Taraxacum Officinale*) ingestion. *The American Journal Of Emergency Medicine*. Vol 28, 1, p. 11.
  - ✚ Gonçalves JLS, Leitão SG, Delle Monache F (2001) In vitro antiviral effect of flavonoid-rich extracts of *Vitex polygama* (Verbenaceae) against acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1. *Phytomedicine* 8 (6): 477-80.
  - ✚ Gramont, Grosbois B, Michaux JLet al. (1990). « Myélome à IgM : 6 observations et revue de la littérature ». *Médecine interne*. 11(1) :13-18.
  - ✚ Gramont, Grosbois B, Michaux JLet al. « Myélome à IgM : 6 observations et revue de la littérature ». *Médecine interne*. 1990 ; 11(1) :13-18.
  - ✚ GRATWOHL A. Transplantation de cellules souches humaines : nouveaux paradigmes. *Forum Med Suisse*, 2008, p. 92–97.
  - ✚ Greenblatt M.S., Bennett W.P., Hollstein M. and Harris C.C. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Research* 54, issue 18 (1994) 4855-4878.
  - ✚ Greenblatt, R.M. (1999). Human herpesvirus 8 infections. *Curr Infect Dis Rep*. 1999 1, 279–285 . <https://doi.org/10.1007/s11908-999-0031-5>
  - ✚ Greipp PR, Leong T, Bennett JM, Gaillard JP, Klein B, Stewart JA, Oken MM, Kay NE, Van Ness B, Kyle RA (1998) Plasmablastic morphology. An independent prognostic factor with clinical and laboratory correlates: Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) myeloma trial E9486 report by the ECOG myeloma laboratory group. *Blood*, 91:2501-2507.
  - ✚ Greipp PR, San Miguel J, Durie BGM, Crowley JJ, Barlogie B, Blade J, Boccadoro M, Child JA, Avet-Loiseau H, Kyle RA, Lahuerta JJ, Ludwig H, Morgan G, Powles R, Shimizu K, Shutsik C, Sonneveld P, Tosi P, Turesson I, Westin J. (2005). International Staging System for multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology*, 23:3412-3420.

- ✚ Gresele P, Fuster V, Vermynen J, Page CP. (2005). Platelets in thrombotic and nonthrombotic disorders, Cambridge University Press; 2010.
- ✚ Gupta P, Kochupillai V et al. (1995). A 12 years study of multiple myeloma at AIIMS, Ind J Med & Ped Oncol. Vol 16:108-114.

## H

- ✚ Harborne, J.B. (1998). Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. Thomson science, Ed. Chapman et Hall, London.
- ✚ Harlan and the Harlan logo are trademarks of Harlan Laboratories, Inc. © 2014 Harlan Laboratories, Inc.
- ✚ HAS décembre 2010. Tumeurs maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématologique, myélome multiple
- ✚ HAS. (2010), Dosage sérique des chaînes légères libres
- ✚ Hervé AVET-LOISEAU. (2018). Communication Biologie du myélome multiple : utilité clinique, Bull. Acad. Natle Méd., séance du 22 mai 2018. Version prépresse mise en ligne le 23/05/2018.
- ✚ Hidayat, R.; Fatmawati. (2016). Anti-cancer activity of *Aquilaria malacensis* leaves on human cervical cancer cells. *European Journal Of Pharmaceutical And Medical Research*,3(1), 46-49.
- ✚ Horde P. LDH, lactate déshydrogénase : dosage et résultats. Journal des femmes Santé. 2018.

## I

- ✚ International Myeloma Foundation. Comprendre : Pomalyst® (pomalidomide) gélules . Californie : International Myeloma Foundation, 2013.
- ✚ IVANOV I.G. (2015). Polyphenols Content and Antioxidant Activities of *Taraxacum officinale* F.H.Wigg (Dandelion) Leaves, IJPPR. 6 (4), 889.

## J

- ✚ J,schuz et al: The International Journal of Cancer Epidemiology, Detection, and Prevention 2015 <http://www.cancerepidemiology.net>
- ✚ J.L. Harousseau, P. Moreau. (2009). « Autologushematopoietic stem-celltransplotation for multiple myeloma », N. Engel .J. Med ; vol. 360, no 25, p. 2645-2654.

- ✚ J.Zhishen, T.Mengcheng, W.Jianming. (1999). "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals" *J Food Chem*, Vol. (64), page : 555.
- ✚ Jason Gotlib, David Kurtz. *Time to Retire the Old IMiD Mechanism of Action Slide*. 3, s.l. : American society of Hematology, 2014, Vol. 11.
- ✚ Jégou, N. Robillard, D. Puthier, M. Amiot, F. Accard, D. Pineau, J. L. Harousseau, R. Bataille, et C. Pellat-Deceunynck. (1999). « réactives plasmocytoses are expansions of plasmoblasts retaining the capacity to differentiate into plasma cells », *blood*, vol. 94, no 2, p. 701-712, 1999.
- ✚ Jemal A., Murray T., Ward E., Samuels A., Tiwari R.C., Ghafoor A., Feuer E.J. and Thun M.J. (2005). *Cancer statistics*. CA: A Cancer Journal for Clinicians 55 ; 10-30.
- ✚ Jia C, Batterman S, Godwin C. (2008). VOCs in industrial, urban and suburban neighborhoods, Part 1: Indoor and outdoor concentrations, variation, and risk drivers. *Atmos Environ* 2008;42:2083-100.
- ✚ Jingwen Li, Jiayuan Luo, Yangyang Chai, Yang Guo, Yang Tianzhi, Yihong Bao. (2021). Hypoglycemic effect of *Taraxacum officinale* root extract and its synergism with *Radix Astragalii* extract. *Food Sci Nutr*. 9:2075–2085.
- ✚ Jo Caers J., Yves Beguin L. (2014). Le myélome multiple asymptomatique: le paysage thérapeutique change. *Onco VOIS* W2.
- ✚ Jouet J.P. Les greffes de cellules souches hématopoïétiques. Université de Lille 2 - Faculté de médecine [en ligne]. 2007 [consulté le 16 Aout 2018]. Disponible sur : [http://medecine.univlille2.fr/pedagogie/contenu/modtransv/module08/item127/greffes\\_cel\\_souches\\_hematop.pdf](http://medecine.univlille2.fr/pedagogie/contenu/modtransv/module08/item127/greffes_cel_souches_hematop.pdf)

## K

- ✚ K. Ghedira . (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. Numéro 4: 162-169 Springer.
- ✚ Kaplan A. (1984). Urea. *Clin Chem*: 437.
- ✚ Kayel RA, Rajkumar SV. (2007). Epidemiology of the plasma-cell disorders. *Best Pract Res Clin Haematol* ; (20) 4 : 637-64
- ✚ Kim JE, Yoo C, Lee DH, Kim SW, Lee JS, Suh C. Serum albumin level is a significant prognostic factor reflecting disease severity in symptomatic multiple myeloma. *Ann*

- Hematol. 2010 Apr;89(4):391-7. doi: 10.1007/s00277-009-0841-4. Epub.PMID:19844712.
- ✚ Kim Paricaud, Guillaume Moulis, Marie-Sophie Combis, Laurent Sailler, Philippe Arlet.(2014). Causes of protidemia above 100g/L. 2014 European Federation of Internal Medicine. Published by Elsevier Inc. VOLUME 25, ISSUE 10, E123
  - ✚ Kim SJ, Bang SM, Choi YS, Jo DY, Kim JS, Lee H, Eom HS, Yoon DH, Suh C, Lee JJ, Hong J, Lee JH, Koh Y, Kim K, Yoon SS, Min CK; Korean Multiple Myeloma Working Party. Bendamustine in heavily pre-treated multiple myeloma patients: Results of a retrospective analysis from the Korean Multiple Myeloma Working Party. Blood Res. 2016 Sep;51(3):193-199. Epub 2016 Sep 23. PMID: 27722131; PMCID: PMC5054252. doi: 10.5045/br.2016.51.3.193
  - ✚ Kisselev AF, Goldberg AL. Proteasome inhibitors: from research tools to drug candidates. Chem Biol 2001;8(8):739-58.
  - ✚ Klein B et Batail R. (1991). « Interleukine 6 et myélome multiple chez l'homme », 326-336.
  - ✚ Królak, E. (2003). Accumulation of Zn, Cu, Pb and Cd by Dandelion (*Taraxacum officinale* WEB.) in Environment with Various Degrees of Metallic Contamination", Pol J Environ. Studies, 12, 2003, 713-721
  - ✚ Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Fonseca R, Rajkumar V, Offord JR, Larson DR, Plevak ME, Therneau TM, Greipp PR (2003) Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. Mayo Clinic Proceedings, 78:21-33.
  - ✚ Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response
  - ✚ Kyle, R. A (2008). Multiple myeloma : an odyssey of discovery. British Journal of Haematology 111, 1035-1044.

## L

- ✚ Lan Q, Zhang L, Li G, Vermeulen R, Weinberg RS, Dosemeci M, Rappaport SM, Shen M, Alter BP, Wu Y, Kopp W, Waidyanatha S, Rabkin C, Guo W, Chanock S, Hayes RB, Linet M, Kim S, Yin S, Rothman N, Smith MT. Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene. Science. 2004;306:1774-6.
- ✚ Lee, H.-H. and S.-Y. Lee. (2008). Cytotoxic and antioxidant effects of *Taraxacum coreanum* Nakai. and *T. officinale* WEB. extracts. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 16(2): p. 79-85.

- ✚ Leigh BR, Kurtts TA, Mack CF, Matzner MB, Shimm DS. Radiation therapy for the palliation of multiple myeloma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1993; 25:801-804.
- ✚ Leleu X, Genevieve F, Guieze R, Duhamel A, Andrieux J, Berthon C, Godon A, Prat-Francophone du Myélome (IFM) (2005) Irregular nuclear shape of bone marrow plasma cells defines a multiple myeloma subgroup related to hypodiploidy and to short survival. *Leukemia Research*, 29:665-671.
- ✚ LIFA Fatma Zohra, LIFA Saoussane (2019). L'Effet de l'extrait aqueux de *Taraxacum officinale* sur les paramètres lipidiques plasmatiques et tissulaires chez des rats rendus obèses par régime cafétéria. Université of Eloued. 572.01/097.
- ✚ Lionel KARLIN. Nouveaux agents dans le myélome multiple : anticorps monoclonaux et immunothérapie. *Horizons Héματο // Janvier / Février / Mars 2016 // Volume 06 // Numéro 01*.
- ✚ Lise MORLON. (2010). « Intérêt de l'immunophénotypage plasmocytaire dans le myélome multiple », THESE pour le DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR en PHARMACIE UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY .
- ✚ Liu P, Leong T, Quam L, Billadeau D, Key NE, Greipp P et al. (1996). Activating mutations of N-ras and K-ras in multiple myeloma show different clinical associations : analysis of the eastern cooperative oncology group phase III trial. . *Blood* ; 88 : 2699-2706.
- ✚ Lopez O. Dauwalder P. Joly I. Dimet J. Bienvenu H. Bernon. (2006). Intérêt et limites des dosages sériques et urinaires des chaînes légères libres pour le diagnostic et le suivi des dysglobulinémies monoclonales. *Laboratoire d'immunologie, Centre hospitalier Lyon Sud, Pierre-Bénite, Ann Biol Clin*, vol. 64, n° 3.
- ✚ Ludwig H, Pohl G, Osterborg A. (2004) Anemia in multiple myeloma. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2(4):233-41. PMID: 16163188.
- ✚ Ludwig H, Pohl G, Osterborg A. Anemia in multiple myeloma. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2004 Apr;2(4):233-41. PMID: 16163188.

## M

- ✚ M Huber, D Triebwasser-Freese, M. (2015). Reichleit et al. Identification, quantification spatiotemporal distribution and génétique variation of major latex secondary métabolites in the common dandelion (*Taraxacum Officinale* agg). *Phytochemistry*, vol 115, p 89-98

- ✚ M. Amin Mir, S.S. Sawhney, Manmohan Singh Jassal (2015). Taraxacum officinale Herb as an Antiinflammatory Medicine. American Journal of Advanced Drug Delivery. ISSN 2321-547X ; 160-180.
- ✚ M. Ananya Mandal. DM. Consulté le 03/10/2020) ; [http://www.news-médical.net/health/multiple-Myéloma-Epidemiology-\(French\).aspx](http://www.news-médical.net/health/multiple-Myéloma-Epidemiology-(French).aspx).
- ✚ M. Rousel. Prise en charge du myélome multiple en première ligne. La Lettre du Rhumatologue - n° 343 - juin 2008.
- ✚ M. Saidi. (2013). Groupe d'étude et de traitement du Myélome en Algérie Xème Congrès Maghrébin d'hématologie Oran.
- ✚ Madani A, Quessar A, Benchekroun . « Le myélome multiple service d'hématologie et d'oncologie pédiatrique, hôpital du 20 aout 1953. 2009 Casablanca » : 58
- ✚ Malard F, Mohty M. Inhibiteurs du proteasome dans le myelome multiple : dernieres actualites. Hematologie 2015 ; 21 : 326-332. doi : 10.1684/ hma.2015.1074.
- ✚ Markus, E., Trestman, S., Cohen, Y. Yoel Angel, Yael Sofer, Moshe Mittelman, Irit Avivi, Naftali Stern, Elena Izkhakov. (2020). Components of metabolic syndrome in patients with multiple myeloma and smoldering multiple myeloma. *BMC Cancer* **20**, 489 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12885-020-06976-1>
- ✚ Mateos MV, Hernandez MT, Giraldo P, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for high-risk smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 2013 ; 369: 438-47.
- ✚ Mauricette Michallet, Nathalie Dhedin, Anne-Sophie Michallet. Allogreffe de cellules souches hématopoeitiques dans le traitement des hémopathies malignes. Volume 88. Numéro 9, septembre 2001.
- ✚ Michał Majewski 1, Bernadetta Lis, Jerzy Ju'skiewicz, Katarzyna Ognik, Małgorzata Borkowska-Sztachańska, Dariusz Jedrejek, Anna Stochmal, Beata Olas. (2020). Phenolic Fractions from Dandelion Leaves and Petals as Modulators of the Antioxidant Status and Lipid Profile in an In Vivo Study. *Antioxidants* , 9, 131
- ✚ MILEK M, JAROSLAV L. (2015). Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of Taraxacum officinale Extracts obtained with Different Solvents. *Res. J. Chem. Env. Sci.* 3 (6), 59.
- ✚ Miller EC, Miller JA. (1979) Milestones in chemical carcinogenesis. *Semin Oncol*, 6: 445-460.

- ✚ Modaresi, M., & Resalatpour, N. (2012). The Effect of *Taraxacum officinale* Hydroalcoholic Extract on Blood Cells in Mice. *Advances in hematology*, 2012, 653412. <https://doi.org/10.1155/2012/653412>
- ✚ Mohaddese Mahboubi, Mona Mahboubi. (2019). Hepatoprotection by dandelion (*Taraxacum officinale*) and mechanisms. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 10(1):1-10.
- ✚ Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE, Belew RK, Olson AJ. (1998). Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*, 19(14): 1639–1662
- ✚ Moshe Mittelman. (2003). The implications of anemia in multiple myeloma. *Clinical lymphoma*. Volume 4, supplément 1, page S23, S29
- ✚ Moumas E, Stirac C, Delbès S et al, 20011. « Atteintes rénales au cours du myélome multiple et des gammopathies monoclonales ». *Hématologie*. 17 (5) : 342-356.
- ✚ Murray R.L. 1984. Alanine aminotransferase. In *Clinical Chemistry. Theory, Analysis and Correlation*. Kaplan L.A., Pesce A.J. (Ed.) CV Mosby Company St Louis; 1088-1090.

## N

- ✚ Najjar SA, Al Tameemi WF. (2017). Application of serum C-reactive protein in comparison with  $\beta$ -2-microglobulin in patient with multiple myeloma. *Iraqi J Hematol* ;6:6-11
- ✚ Naseeruddin Sheik, Sandhya Krupal Variganji1, Venkata Renuka Inuganti, Pravallika Uppala, Phani Meghana Bolla. (2019). Clinico-hematological profile of multiple myeloma in a teaching hospital - A 2 year study. *Archives of Cytology and Histopathology Research* ;4(4):305–309
- ✚ Nayak, B. S., Ojar-Taylor, N., St John, S., Swann, S., Thom, J., Thomas, B., Thomas, L., Townsend, D., & Trotman, S. (2021). Significance of Serum Protein Electrophoresis in the Detection of Multiple Myeloma: A Diagnostic Interpretation of Patients with Varied Immunoglobulins. *International journal of preventive medicine*, 12, 37. [https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM\\_222\\_18](https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_222_18)
- ✚ Nusrat Pathan, Margarita Palutke, Anwar Mohamed. Homogeneously Staining Region harboring CMYC amplification in a patient with primary plasma cell leukemia. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. [En ligne] juin . [Consulté

le 08 octobre 2020 ]  
<http://atlasgeneticsoncology.org/Reports/CRMYPCampMohamedID100068.html>.

## O

- ✚ Olufemi E. Akanni, Ayodeji Faremi, Aminat O. Agboola, Adekemi R. Akanni and Oluseyi E. Bamisaye. (2017). African polyherbal formulation alleviates benzene-induced leukemia in Wistar rats. *Cancer Res* July 1 2017 (77) (13 Supplement) 132; DOI: 10.1158/1538-7445.AM2017-132
- ✚ Orisadiran Patrick Kunle<sup>1</sup>, Adedeji Adebayo Lawrence<sup>1</sup>, Adedeji Abiodun Oluwabusola, AbdulRahman AbdulFatai. (2019). Assessment of Post Exposure of Benzene on Some Hematology Parameters and DNA Lesions on Adult Wistar Rats. *2(1): 1-10, 2019; Article no.AJI.52086*
- ✚ Oudart JB, Maquart FX, Ramont L, 2012. « Synthèse sur la prise en charge des gammopathies monoclonales en biochimie : des recommandations à la pratique quotidienne » *Ann Biol Clin. 70(3) : 251-261.*

## P

- ✚ Pachot M, Péronnet F, Villard C, Bayle A. (2006). Évaluation des performances analytiques du réactif CRP Diasys® sur Roche Hitachi 917®. *Ann Biol Clin 2006 ; 64/4 : 335-339.*
- ✚ Paradisi F, Corti G et Cinelli R. 2001. « Infections in multiple myeloma », *Infect Dis. Clin. North Am. 15 (2) : 373-384.*
- ✚ Pardee A.B., Dubrow R., Hamlin J.L. and Kletzen R.F. *Animal cell cycle. Annual Review of Biochemistry 47 ; 715-750*
- ✚ Perret-Phichitkul Anne. Thèse de doctorat « ANTICORPS MONOCLONAUX ET TRAITEMENT DU MYELOME MULTIPLE : ETAT DES LIEUX ». UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1 FACULTE DE PHARMACIE HINSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES. 2017.
- ✚ Persons, all ages. (2009). World Health Organization. Department of Measurement and Health Information. *Death and DALY estimates for 2004 by cause for WHO Member States.*

- ✚ POMALYST. pomalidomide capsules de 1 mg, 2 mg, 3 mg et 4 mg Agent antinéoplasique Agent immunomodulateur. Le 31 janvier 2018.
- ✚ Qing Lan, Luoping Zhang, Min Shen, Martyn T. Smith, Guilan Li, Roel Vermeulen, Stephen M. Rappaport, Matthew S. Forrest, Richard B. Hayes, Martha Linet, Mustafa Dosemeci, Blanche P. Alter, Rona S. Weinberg, Songnian Yin, Meredith Yeager, Robert Welch, Suramya Waidyanatha, Sungkyoon Kim, Stephen Chanock and Nathaniel Rothman. Polymorphisms in Cytokine and Cellular Adhesion Molecule Genes and Susceptibility to Hematotoxicity among Workers Exposed to Benzene. *Cancer Res* October 15 2005 (65) (20) 9574-9581; **DOI:** 10.1158/0008-5472.CAN-05-1419

## R

- ✚ Réseau National de la Métrologie Française. (2015). Diagnostic de l'insuffisance rénale : amélioration de la mesure de la créatinine par le développement de méthodes et de matériaux de référence.
- ✚ Riccardi A, Gobbi PG, Ucci G, Bertoloni D, Luoni R, Rutigliano L, Ascari E. (1999). Changing clinical presentation of multiple myeloma. *Eur J Cancer*.1991;27(11):1401-5.
- ✚ Riccardi O, Mora C, Tinelli P et al, (2000). « Long-term survival of stage I multiple myeloma given chemotherapy just after diagnosis or at progression of the disease: a multicentre randomized study », *Br. J. Cancer*. 82(7): 1254-1260.
- ✚ Robert KYLE, Dietlind WAHNER-ROEDLER. (2011). Maladie des chaînes lourdes alpha. Orphanet : le portail des maladies rares. [En ligne] octobre 2011. [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?lng=FR&Expert=100025](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=FR&Expert=100025).
- ✚ Robert Morreale. (2004). Société de la LMC, biopsie de moelle osseuse. American Society Of Clinical Oncology. [En ligne] . <http://cmlsociety.org/ponction-de-moelle-osseuse-biopsie-de-moelle-osseuse/?lang=fr>.
- ✚ Romain Guièze, Anne-Sophie Moreau, Sophie Dupire, Valérie Coiteux, Thierry Facon, Xavier Leleu . (2005). Leucémie à plasmocytes. Service des maladies du sang, hôpital Huriez, CHRU, 59037 Lille Cedex. Volume 11 numéro 3, 2005.
- ✚ Ronco P, Aucouturier, Bridoux F, 20011. Monoclonal gammopathie : multiple myeloma, amyloidosis, and related disorders.9

## S

- ✚ S. Manier, X. Leleu . (2011). Myélome multiple : diagnostic clinique et perspective de traitement. Recommandations de l'international MyelomaWorking Group (IMWG) Immuno- Analyse et biologie spécialisée Bo 26, 125-136
- ✚ S. QURESHI, S. ADIL, M.E. ABD EL-HACK, M. ALAGAWANY , M.R. FARAG. Beneficial uses of dandelion herb (*Taraxacum officinale*) in poultry nutrition. World's Poultry Science Journal. 2017 ; [Volume 73](#), [Issue 3](#). pp. 591-602
- ✚ Salles. Myélome. (2003). The International Myeloma Working Group (IMWG) Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. British Journal of Haematology, 121:749-757.
- ✚ San Miguel JF, Almeida J, Mateo G, Blade J, Lopez-Berges C, Caballero D, Hernandez J, Moro MJ, Fernandez-Calvo J, Diaz-Mediavilla J, Palomera L, Orfao A. (2002). Immunophenotypic evaluation of the plasma cell compartment in multiple myeloma: a tool for comparing the efficacy of different treatment strategies and predicting outcome. Blood, 99:1853-1856.
- ✚ San Miguel JF, Almeida J, Mateo G, Blade J, Lopez-Berges C, Caballero D, Hernandez J, Moro MJ, Fernandez-Calvo J, Diaz-Mediavilla J, Palomera L, Orfao A. (2006). Immunophenotypic evaluation of the plasma cell compartment in multiple myeloma: a tool for comparing the efficacy of different treatment strategies and predicting outcome. Blood. 2006 ; 99:1853-1856.
- ✚ Sanjai Sharma, Elizabeta Nemeth, Yi-Hsiang Chen, Julia Goodnough, Alissa Huston, G.D. Roodman, Tomas Ganz, Alan Lichtenstein. (2008). Involvement of Hcpidin in the Anemia of Multiple Myeloma. Clin Cancer Res June : (14) (11) 3262-3267; DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4153
- ✚ Sarfraz, Humaira, Anand Kartik , Liu, Shujuan, Shah, Shilpan. (2020). Multiple myeloma with concurrent immune thrombocytopenic purpura. ecancermedicalscience. 14. 10.3332/ecancer.2020.1012.
- ✚ Schnatter AR, Rosamilia K, Wojcik NC. (2005). Review of the literature on benzene exposure and leukemia subtypes. Chem Biol Interact. 153(4):9–21.
- ✚ Sereme , A.; Millogo-Rasolodimby ,J.; Guinko ,S.& nacro, M.( 2008). Propriétés THERAPEUTIQUES DES PLANTES A TANINS DU BURKINA FASO. Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines, 15 : 41 - 49

- ✚ Sheezan Rasoo, Bharti Sharma(2014) *Taraxacum officinale*: a high value less known medicinal plant. *Annals of Plant Sciences*, 2014, 3 (12), 908-915
  - ✚ Silvestris F, Cafforio P, Tucci M, Dammacco F. Negative regulation of erythroblast maturation by Fas-L(+)/TRAIL(+) highly malignant plasma cells: a major pathogenetic mechanism of anemia in multiple myeloma. *Blood*. 2002 Feb 15;99(4):1305-13. doi: 10.1182/blood.v99.4.1305. PMID: 11830480.
  - ✚ Singh et al. (2008). “Dandelion (*Taraxacum officinale*) hepatoprotective herb with therapeutic potential. P6IMER.India,” *Pharmacognosy Reviews*, vol. 2, no. 3, article 145, 2008.
  - ✚ Smart Fiches Médecine. Item 188 - Dermatoses bulleuses auto-immunes. SmartFiches Médecine. [En ligne] 29 novembre 2015. [Citation : 13 Aout 2018.] <http://smartfiches.fr/rhumatologie/item-188-pathologies-auto-immunes-aspects-epidemiologiques-diagnostiques-et-principes-de-traitement/dermatoses-bulleuses-auto-immunes>.
  - ✚ Snozek CLH, Katzmann JA, Kyle RA, Dispenzieri A, Larson DR, Therneau TM, Melton LJ, Kumar S, Greipp PR, Clark RJ, Rajkumar SV (2008) Prognostic value of the serum free light chain ratio in newly diagnosed myeloma: proposed incorporation into the international staging system. *Leukemia*, 22:1933-1937.
  - ✚ Sorahan T, Kinlen LJ, Doll R. (2005). Cancer risks in a historical UK cohort of benzene exposed workers. *Occup Environ Med*. 62:231–236
  - ✚ Sporn M.B. (1996). The war on cancer. *Lancet* 347 ;1377-1381.
  - ✚ Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardimane JW (Eds). (2008). WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon : IARC
- T**
- ✚ T. Facon, A Yakoub, X. Leuleu. (2003). Myélome Multiple. *EMC Hématologie* : 13-014-E-10.
  - ✚ Tabasum Fatima, Omar Bashir, Bazila Naseer and Syed Zameer Hussain (2018) Dandelion: Phytochemistry and clinical potential. *Journal of Medicinal Plants Studies* ; 6(2) : 198-202.
  - ✚ Tettey, Ocloo, Augustine, Nagajyothi, Lee (2014). Antioxidant Activity of Solvent Fractions of *Taraxacum officinale* (Dandelion) Leaves. *Journal of Herbs Spices & Medicinal Plants* 20(4). DOI: 10.1080/10496475.2013.871382

- ✚ The International Myeloma Working Group (IMWG) (2003) Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *British Journal of Haematology*, 121:749-757.
- ✚ Thierry Facon. (2017). Current treatment practices in Multiple Myeloma. Service des Maladies du Sang University of Lille Lille, France.
- ✚ Tienhaara A, Pulkki K, Mattila K, Irjala K, Pelliniemi TT. (1994). Serum immunoreactive interleukin-6 and C-reactive protein levels in patients with multiple myeloma at diagnosis. *Br J Haematol.* 86:391–393. [PubMed] [Google Scholar].
- ✚ Trojanová I, Rada V, Kokoska L, Vlková E. (2004). The bifidogenic effect of *Taraxacum officinale* root. *Fitoterapia.* ;75:760-763.

## U

- ✚ Ung-Kyu Choi, Ok-Hwan Lee, Joo Hyuk Yim, Chang-Won Cho, Young Kyung Rhee, Seong-Il Lim, Young-Chan Kim. (2010). Hypolipidemic and Antioxidant Effects of Dandelion (*Taraxacum officinale*) Root and Leaf on Cholesterol-Fed Rabbits. *Int. J. Mol.* 11, 67-78; doi:10.3390/ijms11010067

## V

- ✚ V.L. Singleton , R.Orthofer , R.M.Lamuella-Raventos. (1999). "Analysis of total phenols and otheroxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent" *Methods Enzymol.* Vol. (299), page : 152.
- ✚ Verdonk ML, Cole JC, Hartshorn MJ, Murray CW. (2003). Taylor. Improved protein–ligand docking using GOLD. *Proteins : Structure, Function, and Bioinformatics*, 52(4): 609-623.
- ✚ VERNON DAVIDSON. Dream denied by death. *Jamaica Observer.* [En ligne] 19 janvier 2014. [Citation : 13 Aout 2018.] [http://www.jamaicaobserver.com/news/Dream-denied-by-death\\_15819721](http://www.jamaicaobserver.com/news/Dream-denied-by-death_15819721).
- ✚ Vidal M., Gigoux V. and Garbay C. (2001). SH2 and SH3domains as targets for anti-proliferative agents. *Critical Reviews in Oncology / Hematology* 40 ; 175-186.
- ✚ Vital A. (2001). « Paraproteinemic neuropathie », *BrainPathol.* 11(4) : 399-407.

## W

- ✚ Wan-Hong Zhao, MD PhD, Jie Liu, MD, Bai-Yan Wang, MD PhD, Yin-Xia Chen, MD, Xing-Mei Cao, MD, Yun Yang, MD, Yi-Lin Zhang, MD, Fang-Xia Wang, MD PhD,

Peng-Yu Zhang, MD PhD, Bo Lei, MD, Liu-Fang Gu, MD PhD, Jian-Li Wang, MD PhD, Nan Yang, MD, Ru Zhang, MD, Hui Zhang, MD, Ying Shen, MD, Ju Bai, PhD, Yan Xu, Xu-Geng Wang, MD PhD, Rui-Li Zhang, MD, Li-Li Wei, MD, Zong-Fang Li, MD PhD, Zhen-Zhen Li, PhD, Yan Geng, MD PhD, Qian He, MD PhD, Qiu-Chuan Zhuang, Msc, Frank Xiao-Hu Fan, MD PhD, Ai-Li He, MD PhD, Wang-Gang Zhang, MD PhD. (2018). Updated Analysis of a Phase 1, Open-Label Study of LCAR-B38M, a Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy Directed Against B-Cell Maturation Antigen, in Patients with Relapsed/Refractory Multiple Myeloma. The American Society of Hematology. Volume 132 (Supplement 1): 955.

- ✚ Weinberg R.A. (1991). Tumor suppressor genes. *Science* 254 ; 1138-1146.
- ✚ Wiester MJ, Winsett DW, Richards JH, Doerfler DL, Costa DL. (2002). Partitioning of benzene in blood: influence of hemoglobin type in humans and animals. *Environ Health Perspect.* 110(3):255-61. doi: 10.1289/ehp.02110255. PMID: 11882476; PMCID: PMC1240765.
- ✚ Wirngo, F; Lambert, M.N.E, Jeppesen P.B. (2016) .The Physiological Effects of Dandelion (*Taraxacum Officinale*) in Type 2 Diabetes. *The Review of DIABETIC STUDIES.* 13(2-3),113-131.

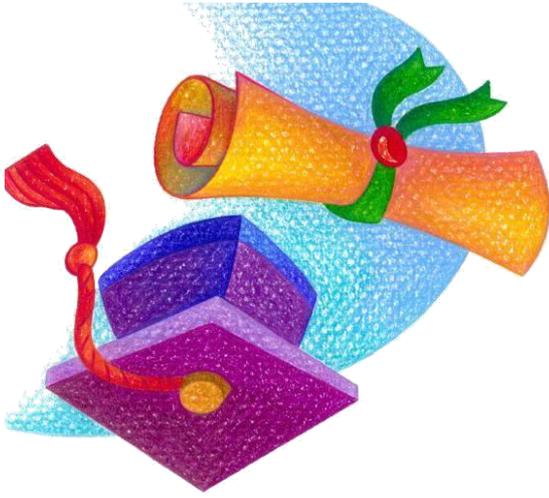
## X

- ✚ X. ARMOIRY<sup>1,2</sup>, P. MOREAU<sup>3</sup> , G. AULAGNER<sup>1,2\*</sup>. Prise en charge du myélome multiple : traitement standard et nouveautés thérapeutiques. *J Pharm Clin* 2007 ; 26 (1) : 33-9
- ✚ X. Leleu et al. Thalidomide : mécanismes d'action et indications en hématologie. *La revue de médecine interne.* Elsevier, 2005, Vol. 26.

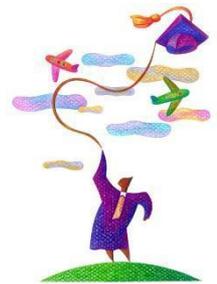
## Y

- ✚ Yamamura K, Katoh T, Kikuchi M, Yoshikawa M, Arashidani K. (1999). Effect of benzene exposure on hematology and hepatic drug metabolic enzymes in ethanol administrated rats. *J UOEH.* 1;21(1):29-35. Japanese. doi: 10.7888/juoeh.21.29. PMID: 10202790.
- ✚ Yang, J., Liu, Z., Liu, H., He, J., Yang, J., Lin, P., Wang, Q., Du, J., Ma, W., Yin, Z., Davis, E., Orłowski, R. Z., Hou, J., & Yi, Q. (2017). C-reactive protein promotes bone destruction in human myeloma through the CD32-p38 MAPK-Twist axis. *Science signaling*, 10(509), eaan6282. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aan6282>.

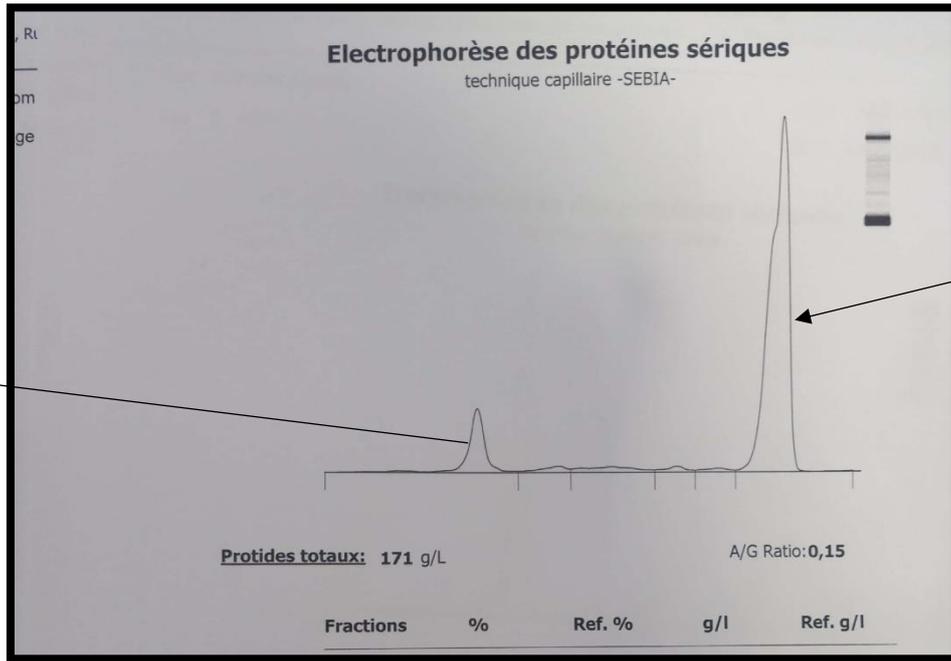
- ✚ Yansong Xue, Shuming Zhang, Min Du, Mei-Jun Zhu. (2017). Dandelion extract suppresses reactive oxidative species and inflammasome in intestinal epithelial cells. *Journal of Functional Foods* 29 10–18
- ✚ Yansong Xue, Shuming Zhang, Min Du, Mei-Jun Zhu. (2017). Dandelion extract suppresses reactive oxidative species and inflammasome in intestinal epithelial cells. *Journal of Functional Foods* 29 10–18
- ✚ Younes M, Hachfi H, Hammouda F, Younes K, Hammouda SB, Jguirim M et al. Les facteurs pronostiques de survie au cours du myélome multiple. *Tunis Med.* 2014 Jun; 92(6): 399-405. PubMed.
- ✚ Younes M, Hachfi H, Hammouda F, Younes K, Hammouda SB, Jguirim M et al. Les facteurs pronostiques de survie au cours du myélome multiple. *Tunis Med.* 2014 Jun; 92(6): 399-405. PubMed.



# *Annexes*



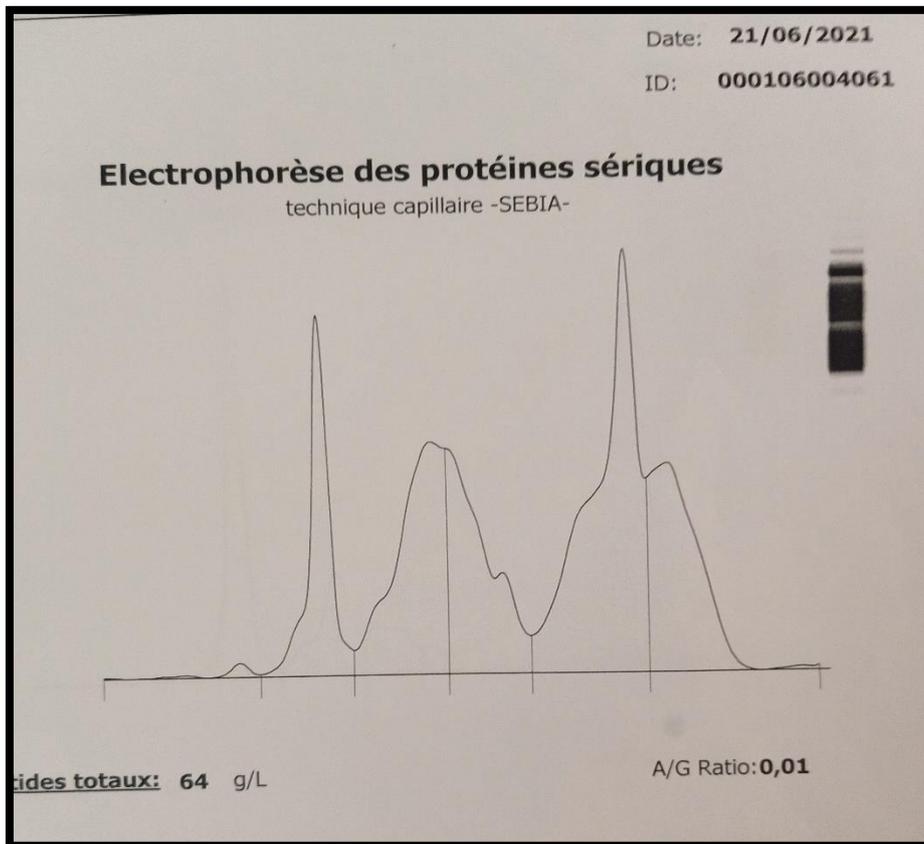
Annexe N°01



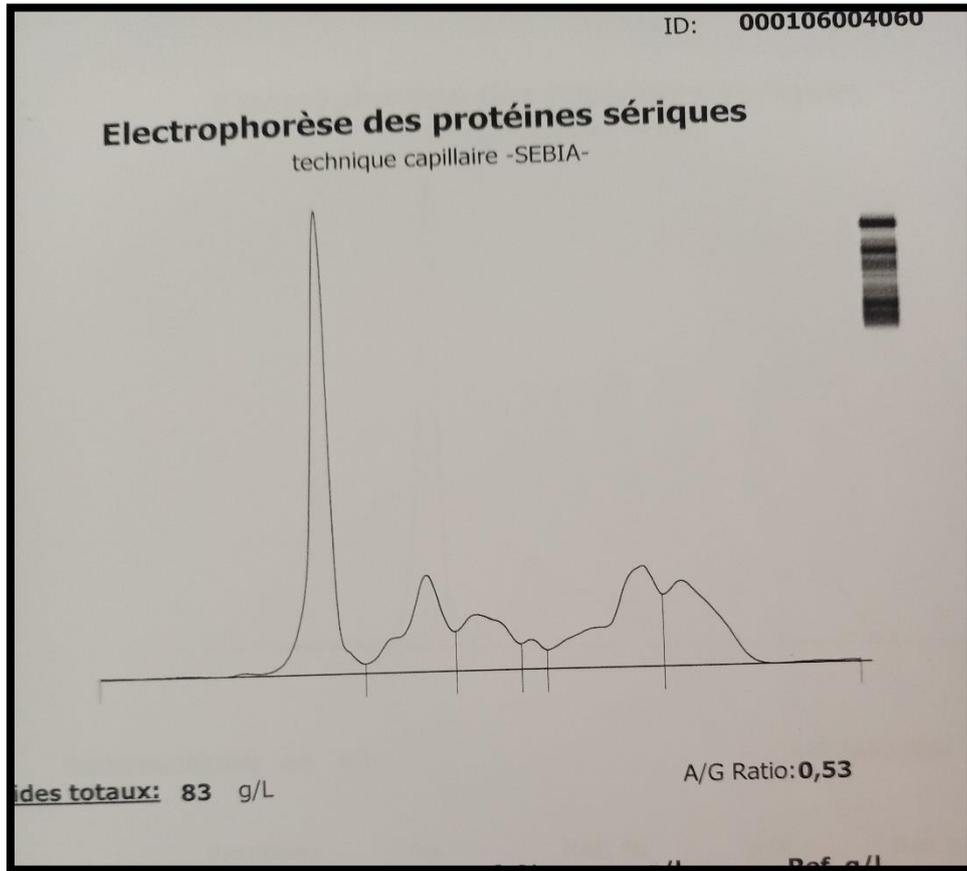
Hypo albuminémie

Pic gamma globuline

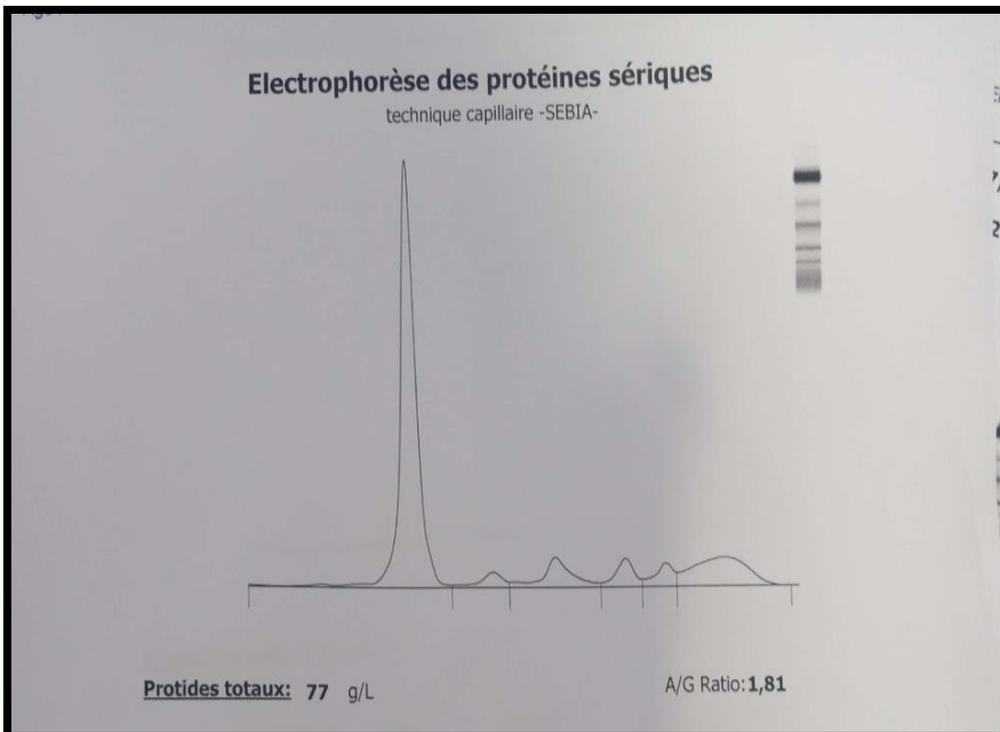
Electrophorèse des protéines sériques pic gammaglobuline



Electrophorèse des protéines sérique pic dans les fractions globuline avec hypoalbuminémie



**Electrophorèse des protéines sérique pic béta2 globuline**



**Electrophorèse des protéines sérique profil normal**

## Annexe N°02

### Matériels utilisés



**Extrait avant évaporation**



**Evaporateur à sec**



**Centrifugeuse**



**Microscope optique**



**La hotte**



**Bain-marie**



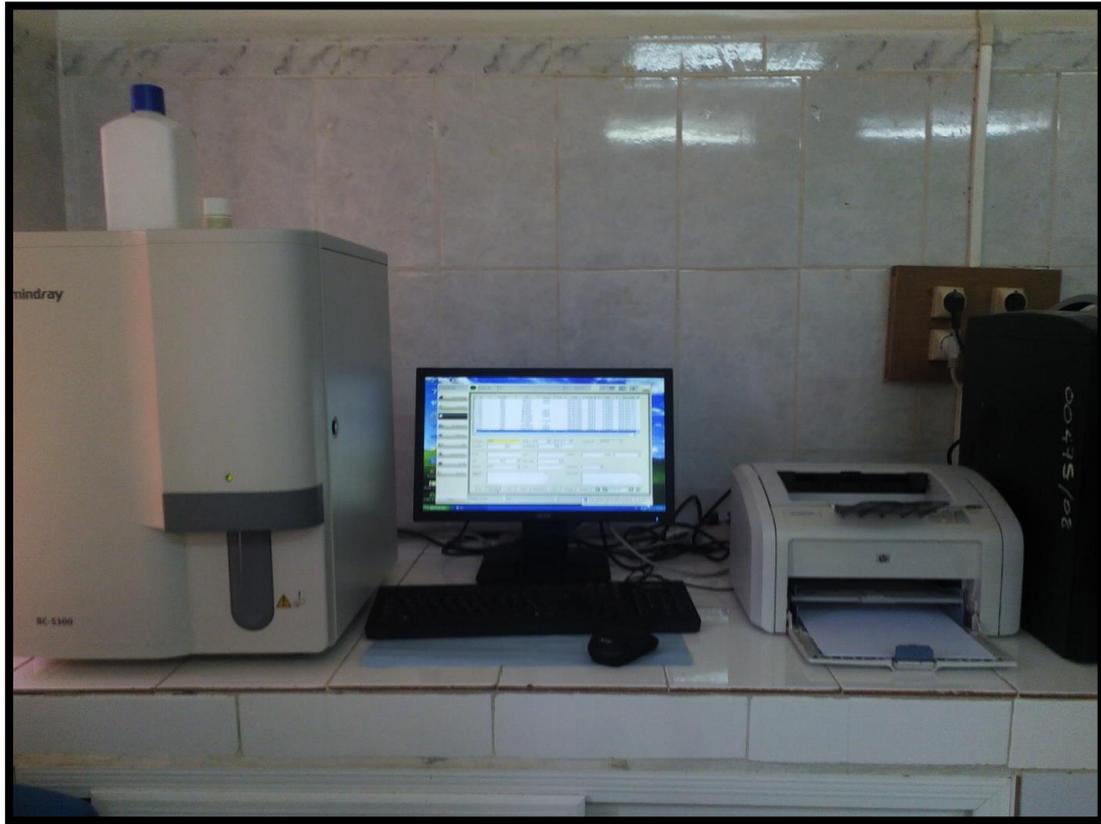
**Spectrophotomètre**



**Solution de traitement**



**Lame pour CRP**



**Analyseur pour formule de numération sanguine**



**Spectrophotomètre d'absorption atomique**

## Annexe N°03

Université djillali liabes  
Facultés des sciences de la nature et de la vie

**Questionnaire sur l'utilisation de pissenlit en médecine traditionnelle**

Faites une croix dans la case que vous estimez convenable

**L'informateur**

Age :

Sexe : Masculin  Féminin

Niveau d'étude

    Analphabète

    Primaire

    Secondaire

    Universitaire

Situation familiale

    Célibataire

    Marié

Habitat

    Ville  village

La plante

Connaissez-vous (pissenlit, الهندباء)

    Oui  non

Quels sont les autres noms communs de la plante

.....

Dans quel domaine la plante est utilisée

    Médecine  cosmétique

    Industrie  Autre

Quelles sont les parties utilisées en médecine

    Fleurs  feuilles  graine  racine

En quel état sont-elles utilisées

    Fraîche  sèche

Quel est leur mode de préparation

    Infusion  Décoction  Macération

    Cataplasme  Autre

Quel est le mode d'administration

    Oral  Inhalation

    Autre

la plante est utilisée dans quel type d'affection

    Dermatologie

    Respiratoire

    Rénale

    Hématologique

    Métabolique

    Autre

    Tube digestif

Est-ce que la plante a des effets secondaires

    oui  non

Qu'est-ce que vous pensez de l'efficacité de la plante

    Importante  Moyenne

    Faible

Posologie

    cuillère  pincée  poignée

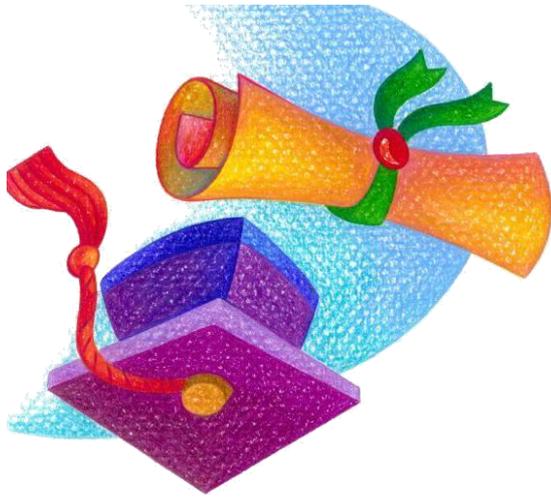
Merci pour votre collaboration

Activer  
Accédez

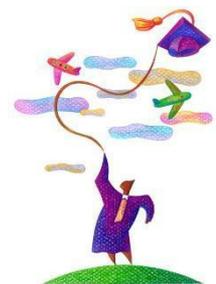
## Questionnaire de l'étude ethnobotanique







# Articles scientifiques



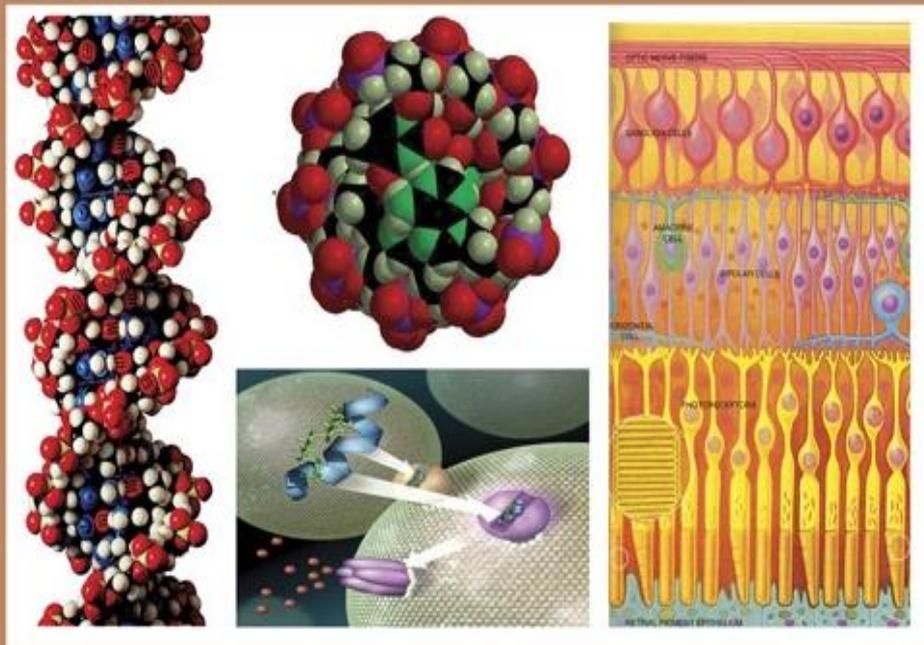


C

EGYPTIAN ACADEMIC JOURNAL OF

# BIOLOGICAL SCIENCES

PHYSIOLOGY & MOLECULAR BIOLOGY



ISSN  
2090-0767

WWW.EAJBS.EG.NET

Vol. 13 No. 2 (2021)

Citation: *Egypt. Acad. J. Biol. Sci. (C. Physiology and Molecular biology) Vol. 13(2) pp37-46 (2021)*

DOI: 10.21608/EAJBSC.2021.189884



## Autologous Stem-Cell Transplantation in Patients with Multiple Myeloma

Bekhaled Imene<sup>1\*</sup>, Mehida Hayet<sup>2</sup>, Benalia Abdelkrim<sup>3</sup>, Oueldjeriouat Hafida<sup>4</sup>, Mai Abdesselam Hichem<sup>1</sup> and Djebbar Ahmed Abdelhammid<sup>3</sup>

1. Biotoxicology Laboratory. Department of Biology. Faculty of Natural and Life Sciences. Djilali Liabès University, Sidi-Bel-Abbes. Algeria.
2. Molecular microbiology, proteomics and health Department of Biology. Faculty of Natural and Life Sciences. Djilali Liabès University, Sidi-Bel-Abbès. Algeria.
3. Environments and Health Research Laboratory. University Djilali Liabes, Sidi-Bel-Abbes, Algeria
4. Hematology department EHU Oran Algeria

\*E. Mail : [bekhaledimene@gmail.com](mailto:bekhaledimene@gmail.com)

### ARTICLE INFO

#### Article History

Received: 11/7/2021

Accepted: 18/8/2021

#### Keywords:

Multiple Myeloma, survival rate, hematopoietic stem cells transplantation, cryotherapy.

### ABSTRACT

**Introduction:** Multiple myeloma is a cancer of the plasma cells that attacks and destroys bones. Myeloma is the second most common cancer of the blood and accounts for about 12% of diagnosed hematologic cancers. Depending on the patient's condition and age, the treatment of multiple myeloma aims to eliminate the manifestations of the disease, to contain its progression and/or to treat the complications to ensure a better patient's quality of life. The survival rate in multiple myeloma patients is significantly improved through new therapeutic agents such as monoclonal antibodies, immunomodulators, proteasome inhibitors and hematopoietic stem cells transplantation, which is considered as the standard protocol in patients under 65 years old. The objective of this study is to determine the importance of autologous hematopoietic stem cell transplantation in improving the survival rate and quality of life of patients with multiple myeloma.

**Materials and methods:** 319 multiple myeloma patients who underwent hematopoietic autologous stem-cell transplantation, were included in this retrospective descriptive and analytical study.

**Results:** multiple myeloma can affect both sexes, the results of our study revealed a male predominance with a percentage of 61%.

Data analysis shows a significant correlation between the patient's age and the CD 34+ count and a highly significant correlation between cryotherapy and overall survival rate that was about 5 years.

**Conclusion:** through our study, we have confirmed that autologous transplantation strongly contributes to improving the survival rate of myeloma patients. Hematopoietic stem-cell transplantation remains the first-line treatment for patients under 65 years of age.

### INTRODUCTION

Multiple myeloma (MM), also known as Kahler's disease, is a malignant hemopathy characterized by the multiplication of tumor plasma cells in the bone marrow, often with the secretion of monoclonal immunoglobulin (free light oak) (Anne Cairoli, Michel André Duchosal, 2013).

The annual incidence of multiple myeloma is approximately 86,000 cases which represent about 0.8% of all cancers (Nikolaus Becker, 2011). The highest incidence is recorded in the industrialized regions of Australia, New Zealand, Europe and North America (Nikolaus Becker, 2011).

The annual incidence in Algeria is about 0.9 to 1.1/100,000 inhabitants/year (Bekadja MA, 2009; Saidi M, 2013). The etiology of MM is still unknown and no predisposing factors have been clearly identified yet (Charlot-Lambrecht I. *et al.*, 2011). Indeed, the only known apparent risk factor is exposure to ionizing radiation (Manier S, Leleu X, 2011; Kayel RA, Rajkumar SV, 2007; I. Charlot-Lambrecht *et al.*, 2008; Rajkumar SV *et al.*, 2007).

A case-control study conducted by Dalus Baris and al in 2004 indicates that occupational exposure to pesticides does not present an increased risk of multiple myeloma, while some animal viruses may be implicated in MM development in farmworkers and residents (Dalsu Baris *et al.*, 2004). Multiple myeloma manifests as pain caused by bone damage (58%), anemia (73%), hypercalcemia (13%) and kidney failure (20-40%) (Laubach *et al.*, 2016), (Kyle R.A. *et al.*, 2003). However, these criteria are based on monoclonal plasmocyte medullary infiltration followed by a determination of whether or not symptomatic multiple myeloma (Anne Cairoli, Michel André Duchosal, 2013).

Despite the development of new therapeutic approaches, multiple myeloma is still an incurable disease and is gradually becoming resistant to all treatments (Fouquet G. *et al.*, 2017). Multiple myeloma treatment is based on several protocols. The choice of treatment depends on the age, the patient's general condition and prognostic criteria for multiple myeloma (Fouquet G. *et al.*, 2017), the symptomatic or non-

symptomatic criteria and the detected genetic abnormalities (Riccardi O. *et al.*, 2000).

The treatment of MM is based on the use of several substances. However, alkylating agents and corticosteroids, proteasome inhibitors, bisphosphonate and immunomodulators are the most used anticancer substances (Anne Cairoli, Michel André Duchosal, 2013). On the other hand, autotransplantation remains the first-line treatment in patients under 65 years old (Alexis Genthon, 2016).

At present, the haematopoietic stem cells (HSCs) used for autologous transplantation come from peripheral blood. These cells are recovered by cytophoresis, obtained from patients who have received recombinant haematopoietic growth factors such as GM-CSF and G-CSF. Moreover, the use of HSCs from bone marrow has become exceptional (Jean-Luc Harousseau, 2013). The rate of progression and relapse remains high in multiple myeloma patients even though the overall survival rate is improved. Long-term data indicate a risk of recurrence of the disease after first-line treatment.

Autotransplantation is one of the main therapeutic protocols used in the treatment of MM that gives maximum survival. The aim of this study is to analyze the general state and life span of patients who have undergone autologous haematopoietic stem-cell transplantation in the western Algeria region.

#### **PATIENTS AND METHODS**

This is a retrospective, descriptive and analytical study of records of multiple myeloma patients who have undergone autologous transplantation. This survey took place in the western Algeria region over a period of 10 years, from 2010 to 2020. Hence, 319 patients were included in our study. Therapeutic response, progression and relapse were defined according to EBMT (Bladé J. *et al.*, 1998)

and international myeloma working group criteria (S. Manier, X. Leleu, 2011).

Complete remission was defined by the disappearance of the serum and urinary monoclonal component and the disappearance of extramedullary plasmacytomas. The state of progression was also defined by the increase of the serum monoclonal component > 25 % and the increase > 25 % of the medullary plasmacytosis (Bladé J. *et al.*, 1998).

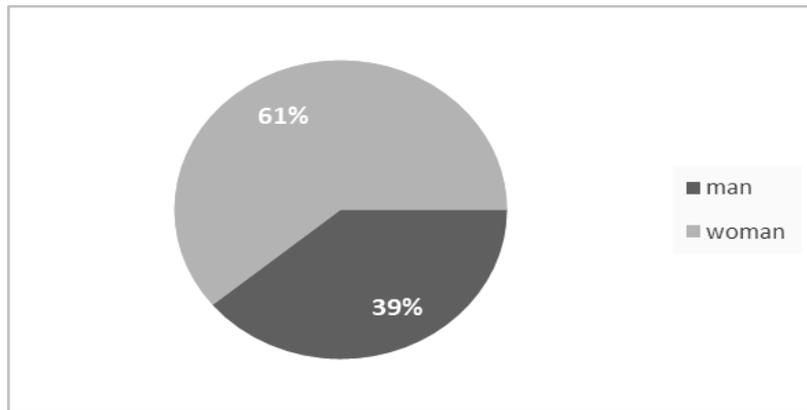
Overall survival is calculated from the first day of the autograft.

All data were analyzed using the IBM SPSS version 25 software, through the Chi-square and the Anova tests.

**RESULTS**

**Distribution by Gender:**

Figure 1 shows the distribution by gender of our study population. Among the 319 patients of our series, 195 men with a percentage of 61% and 124 women with a percentage of 39% were recorded.

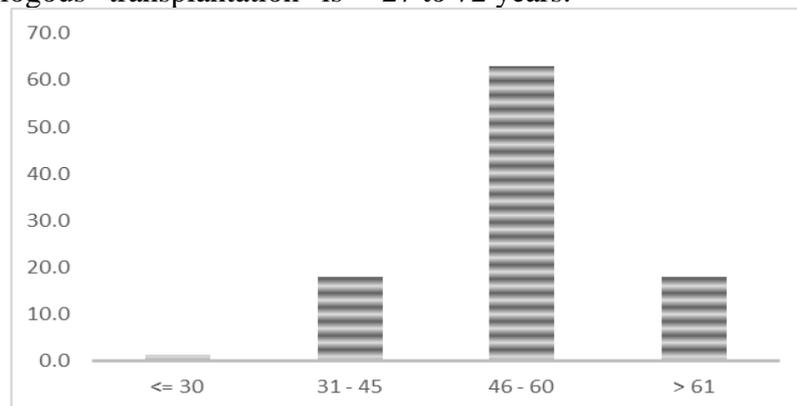


**Fig.1:** Distribution of patients by gender.

**Age Distribution :**

The distribution by age of patients with multiple myeloma who underwent autologous transplantation is

shown in Figure 2. The most represented age category was [46-60] The average age was 53 years with extremes ranging from 27 to 72 years.



**Fig.2 :** Patients age distribution

**Distribution by Post-Transplant Status (1 and 100-day duration):**

The following Table (1) shows the distribution of patients according to the 1 to 100 days post-transplant status. In our

study, the majority of patients were in a state of complete responsibility for both durations (1 and 100), and 30.1% were in relapse for post-transplant status 1.

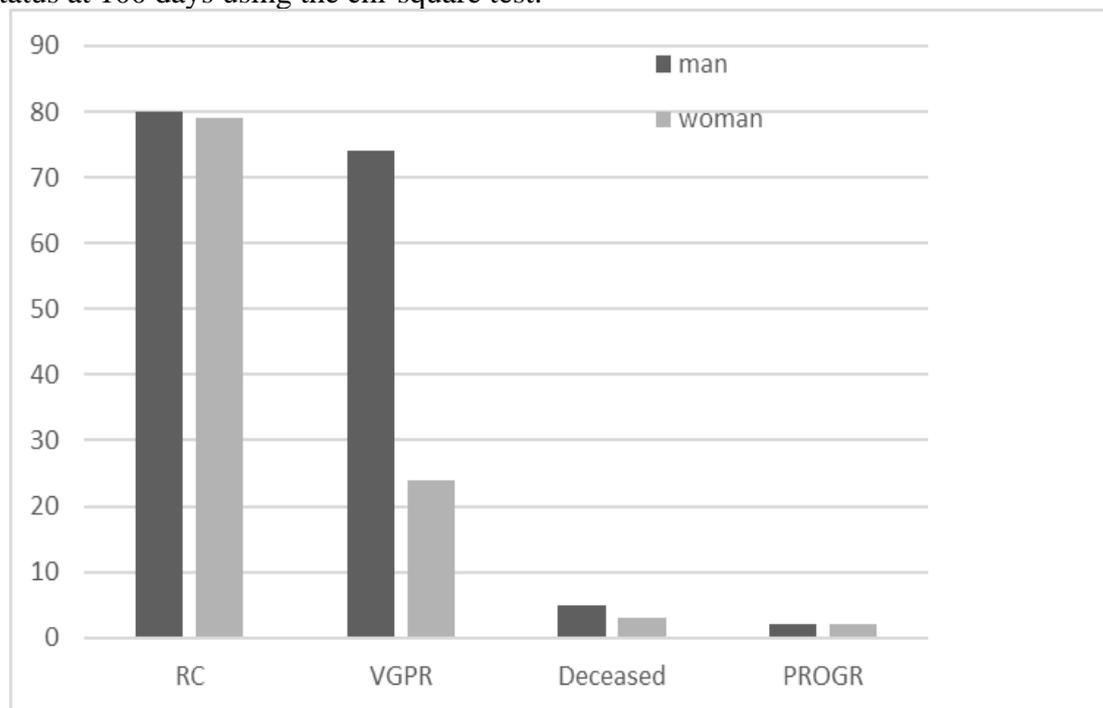
**Table 1:** Distribution according to post-transplant 1 status and 100-day status

| Status                   | Patient condition      | Percentage % |
|--------------------------|------------------------|--------------|
| Post-transplant status 1 | Complete response (CR) | 32           |
|                          | Relapse                | 30.1         |
|                          | Deceased               | 3.1          |
|                          | VGPR                   | 11           |
|                          | Biological relapse     | 1.3          |
|                          | Progression            | 1.9          |
|                          | Lost sight of          | 20.6         |
| 100-day status           | CR                     | 49.5         |
|                          | VGPR                   | 30.7         |
|                          | Deceased               | 2.5          |
|                          | Progression            | 1.3          |
|                          | Lost sight of          | 16           |

**Influence of Gender on 100-Day Status:**

The following figure (3) represents the relation between sex and status at 100 days using the chi-square test.

The obtained results show a highly significant correlation between the studied parameters ( $p < 0.01$ ).

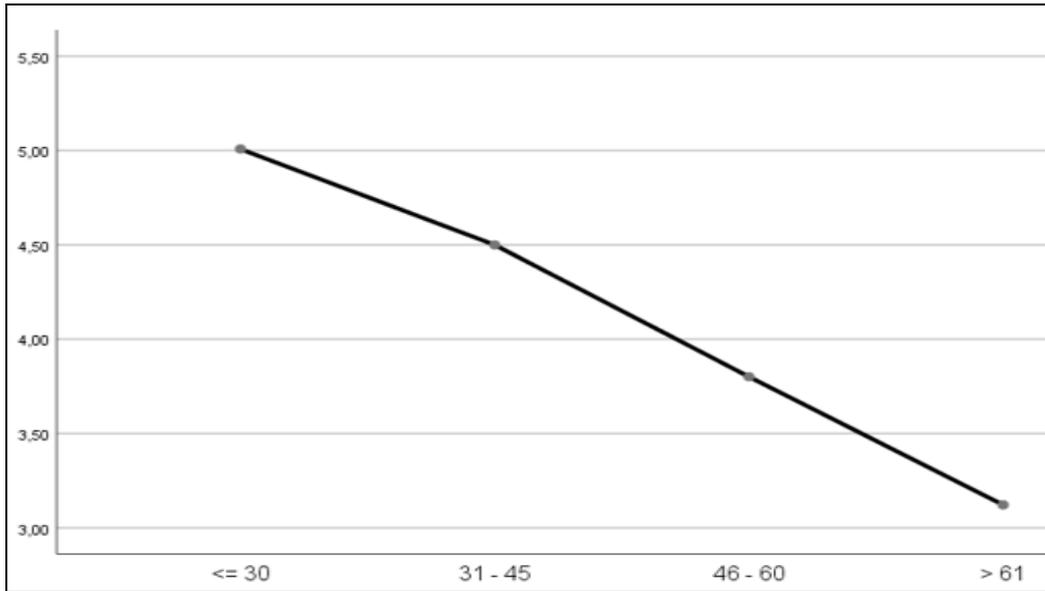
**Fig.3:** Correlation between gender and 100-day status.

RC: Complete response, VGPR: Reduction of the monoclonal component less than 90%, PROG: Progression.

**Influence of Age on CD34+ Count:**

An autograft, the CD34+ stem cells number is very important because they will be collected, frozen and then re-injected to the patients when their number

is very high. The results show (Fig.4) an inversely proportional relation between The CD34+ cells number and the age of patients ( $p < 0.01$ ).

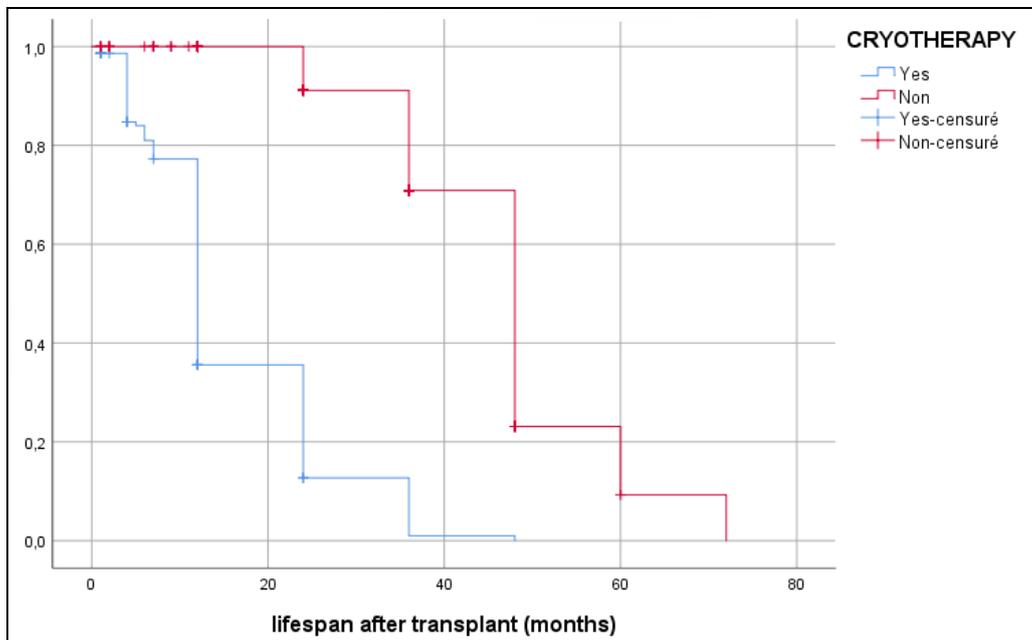


**Fig.4:** Correlation between age and the number of CD34+ cells.

**Influence Of Cryotherapy on Overall Survival:**

Concerning the lifespan of patients after transplant while using cryotherapy, a log-rank test was used to determine if there were differences in the survival

distribution associated with either the presence or absence of this intervention: The survival distributions for the two interventions were statistically significant,  $\chi^2(2) = 211,63, p < .0001$  (Fig.5).

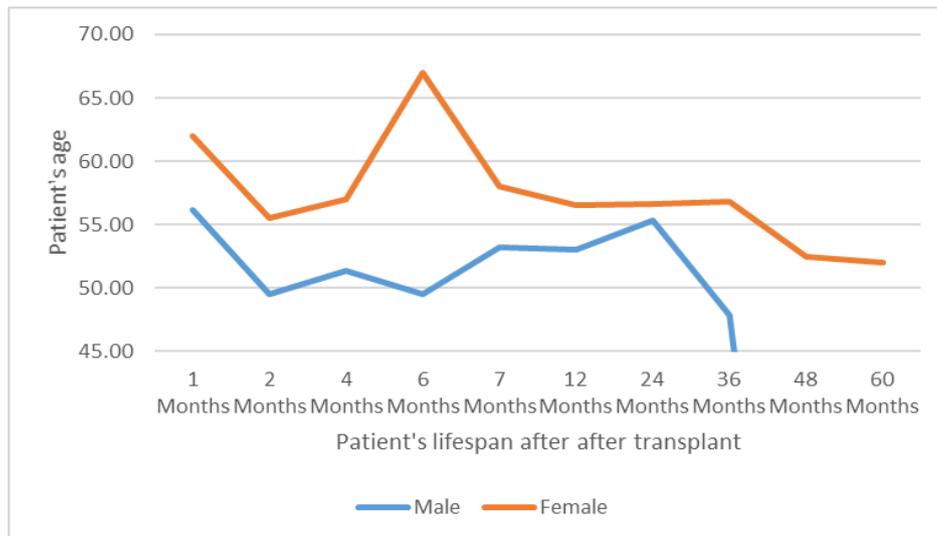


**Fig.5:** Correlation between lifespan and cryotherapy.

**Influence of Age and Gender on Lifespan:**

The two ways Anova test results

show (Fig.6) no significant influence of patient’s age and sex, and their lifespan after transplant (P=0.994).



**Fig. 6:** Effects of patient's age and gender on their Life span.

### DISCUSSION

Multiple myeloma represents about 1% of all cancers and about 2% of cancer-related deaths worldwide (Manier S., Leleu X., 2011). In our study series, a male predominance was found with a sex ratio of 1.55. These results are similar to those of another study published in the Algerian journal of hematology in 2009 which indicates a sex ratio of 1.4 (Bekadja M.A., 2009).

Auto-transplantation of haematopoietic stem cells is the first-line treatment, but it is only affordable for patients under 65 years of age (Harousseau J.L., Moreau P., 2009). Indeed, the average age of patients who had undergone an autograft of CSH was 53 years in our study. These results are consistent with the literature.

Furthermore, the monitoring of patients after autograft reveals a continuous risk of relapse for several years following autograft. However, in this series, the majority of patients were in a state of complete response followed by a state of relapse. In addition, a study realized by M Krejci showed that 35% of the patients were incomplete, and 60% were in partial remission (Krejci M. *et al.*, 2005). Also, other research showed that patients treated with an autologous haematopoietic stem cell transplant had a

24% risk of disease progression (Blade' J. *et al.*, 2003).

Gender is one of the main choice criteria for the treatment of Multiple myeloma. Data analysis shows a very significant correlation ( $p < 0.01$ ) between the patient gender and the therapeutic response after 100 days following the autograft. The CD34+ cell count is essential to determine the richness of the sample in haematopoietic progenitors (Sparrow R.L. *et al.*, 2006). In our study, there was a very significant correlation between the number of CD34+ cells and the age of the patient. The products collected by cytopheresis contain an average of  $3.82 \pm 2.02 \times 10^6/\text{Kg}$  CD34+ cells, whereas the required value is  $2.5-5 \times 10^6/\text{Kg}$  and the target value for double autografting is  $6 \times 10^6/\text{Kg}$  (Allan, D. *et al.*, 2002). Similarly, to our findings, J. Vorlicek and colleagues noted a median level of perfused CD34+ cells of  $4.7 \times 10^6/\text{kg}$  (Vorlicek J., 2005).

Our results show also that the cryotherapy protocol has a significant influence on the median survival rate after an autologous haematopoietic stem cell transplant. Studies show that oral cryotherapy is used for the prevention of oral mucositis (Chen J. *et al.*, 2017). 70% of patients receiving an autologous haematopoietic stem cell transplant

develop oral mucositis as a result of conditioning chemotherapy with a high dose of melphalan. The results obtained by Joey et. al show that cryotherapy is potentially effective in reducing oral mucositis (Chen J. *et al.*, 2017). The multiple myeloma patient's overall survival has improved very significantly in recent years. Analysis of the results shows an overall survival rate of 5 years. Vorlicek *et al.* noted that median survival was ranged between 29.5 and 68.8 months, with a significant correlation between age and therapeutic response after autograft (Chen J. *et al.*, 2017).

In addition, other studies showed a median survival of 31.7 months (Shah N. *et al.*, 2012), 24 months (Blimark C. *et al.*, 2001) and an 18-month overall survival rate (Tricot G *et al.*, 1995). In addition, other results found by Fonseca and his team showed a more important overall survival rate of 7 to 10 years (Fonseca R. *et al.*, 2017).

The HOVON study demonstrates that autologous hematopoietic stem cell transplantation is more efficient than newer agents for the treatment of multiple myeloma (Kumar S.K. *et al.*, 2011).

## CONCLUSION

Although haematopoietic stem cell transplantation is currently the standard therapy for the treatment of multiple myeloma in patients under 65 years of age, this study confirms that the complete response rate is very high compared to the mortality rate with a percentage of 32% for post-transplant status 1 and 49.5% for status at 100 days. The correlation between cryotherapy and overall survival after autograft is highly significant with overall survival of 5 years. Analysis of the obtained data shows that the age and the sex of the patient represent the main choice criteria for treatment.

This study confirms the fundamental interest of autologous haematopoietic stem cell transplantation in the management of patients with multiple myeloma.

## REFERENCES

- Allan, D, Keeney, M., Howson-Jan, K. *et al.* (2002). Number of viable CD34<sup>+</sup> cells reinfused predicts engraftment in autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 29, 967–972  
<https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1703575>
- Anne Cairoli, Michel André Duchosal. (2013). Myélome multiple : diagnostic et perspective thérapeutiques. *Forum Med Suisse* ; 13(38) :746-751
- Bekadja MA. (2009). (Reporteur du groupe Algérien du Myélome). Approche épidémiologique nationale. *Revue Algérienne d'hématologie*.
- Bladé J, Samson D, Reece D, Apperley J, Björkstrand B, Gahrton G, Gertz M, Giralt S, Jagannath S, Vesole D. (1998). Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant. *British Journal of Haematology*, 102(5):1115-23. doi: 10.1046/j.1365-2141.1998.00930.x. PMID: 9753033.
- Bladé J, Sureda A, Ribers J, (2003). Thérapie à haute dose Auto transplantation/intensification par rapport à la poursuite de la chimiothérapie conventionnelle chez les patients atteints de myélome multiple répendant à la chimiothérapie initiale. Résultats définitifs de PETHMA après un suivi médian 66 mois. Acte de 45<sup>e</sup> réunion annuelle de l'American Society of Hematology. *Blood* 2003 ; 102 : 42a, résumé numéro 135.

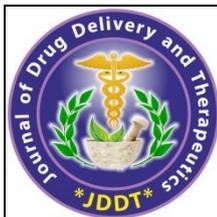
- Blimark C, Veskovski L, Westin J, Rödger S, Brune M, Hjorth M, et al. (2001). Melphalan 100 mg/m<sup>2</sup> with stem cell support as first relapse treatment is safe and effective for myeloma patients with long remission after autologous stem cell transplantation. *European Journal of Haematology*, 87(2): 117–22.
- Charlot-Lambrecht I; Salmon J.H; Ganieux-Lemoussu L; Brochot P; Eschard J.P. (2011). Myélome multiple. *Elsevier Masson SAS, Paris, Appareil locomoteur*, 14-027-B-10, P : 1-12
- Chen J, Seabrook J, Fulford A, Rajakumar I. (2017). Icing oral mucositis: Oral cryotherapy in multiple myeloma patients undergoing autologous hematopoietic stem cell transplant. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*.; 23(2):116-120. doi:10.1177/1078155215620920.
- Dalsu Baris, Debra T Silverman, Linda Morris Brown, G Marie Swanson, Richard B Hayes, Ann G Schwartz, Jonathan M Liff, Janet B Schoenberg, Linda M Pottern, Raymond S Greenberg, Patricia A Stewart. (2004). Occupation, pesticide exposure and risk of multiple myeloma. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*;30(3):215-22. doi: 10.5271/sjweh.782.
- Fonseca R, Abouzaid S, Bonafede M, Cai Q, Parikh K, Cosler L, Richardson P. . (2017). Trends in overall survival and costs of multiple myeloma 2000-2014. *Leukemia*, 31(9):1915-1921. doi: 10.1038/leu.2016.380. Epub 2016 Dec 23. PMID: 28008176; PMCID: PMC5596206.
- Fouquet G, Snell KI, Guidez S, Schraen S, Boyle E, Renaud L, Desmier D, Machet A, Moya N, Systchenko T, Gruchet C, Decaux O, Arnulf B, Fohrer C, Richez V, Kolb B, Macro M, Karlin L, Royer B, Pegourie B, Hebraud B, Caillot D, Perrot A, Moreau P, Facon T, Avet-Loiseau H, Dejoie T, Hulin C, Harding S, Leleu X. (2017). Heavy + light chain analysis to assign myeloma response is analogous to the IMWG response criteria. *Leukemia & lymphoma*;59(3):583-589. doi: 10.1080/10428194.2017.1339876 . PMID : 28697637.
- Charlot-Lambrecht I, J.-H. Salmon: Interne, L. Gagneux-Lemoussu : Praticien hospitalier, P. Brochot : Praticien hospitalier, J.-P. Eschard . (2011). Myélome multiple. *La revue de medecine interne*, [14-027-B- 10] - Doi : 10.1016/S0246-0521(11)57251-1
- Laubach J, L Garderet, A Mahindra , G Gahrton, J Caers, O Sezer, P Voorhees, X Leleu, H E Johnsen , M Streetly , A Jurczynszyn, H Ludwig , U-H Mellqvist, W-J Chng , L Pilarski , H Einsele , J Hou , I Turesson , E Zamagni , C S Chim , A Mazumder , J Westin , J Lu , T Reiman , S Kristinsson , D Joshua , M Roussel , P O'Gorman , E Terpos , P McCarthy , M Dimopoulos , P Moreau , R Z Orłowski , J S Miguel , K C Anderson , A Palumbo , S Kumar , V Rajkumar , B Durie , P G Richardson (2016). Management of relapsed multiple myeloma: recommendations of the International Myeloma Working Group. *Leukemia*, 1005-17. doi: 10.1038/leu.2015.356. Epub 2015 Dec 29. PMID: 26710887.
- Alexis Genthon. (2016). Myélome multiple : l'autogreffe après 65 ans ?. *Hématologie* ,;22(6) :386-

387. doi :10.1684/hma.2016.1197
- Vorlicek J. (2005). Prognostic factors for survival after autologous transplantation: a single centre experience in 133 multiple myeloma patients. *Bone Marrow Transplantation*, 35, pp159–164
- Harousseau JL, P. Moreau. (2009). « Autologushematopoietic stem-celltransplotation for multiple myeloma ». *The New England Journal of Medicine*; vol. 360, no 25, p. 2645-2654.
- Jean-Luc Harousseau. (2013). Autograft of hematopoietic stem cells in multiple myeloma. Vol 32, N°24-juillet 2013 p.1107
- Kayel RA, Rajkumar SV. (2007). Epidemiology of the plasma-cell disorders. Best Practice & research. *Clinical Haematology*; (20) 4: 637-64
- Kumar SK, Lee JH, Lahuerta JJ, Morgan G, Richardson PG, Crowley J, Haessler J, Feather J, Hoering A, Moreau P, LeLeu X, Hulin C, Klein SK, Sonneveld P, Siegel D, Bladé J, Goldschmidt H, Jagannath S, Miguel JS, Orłowski R, Palumbo A, Sezer O, Rajkumar SV, Durie BG. (2012). International Myeloma Working Group. Risk of progression and survival in multiple myeloma relapsing after therapy with IMiDs and bortezomib: a multicenter international myeloma working group study. *Leukemia*, 26(1):149-57. doi: 10.1038/leu.2011.196.
- Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Fonseca R, Rajkumar V, Offord JR, Larson DR, Plevak ME, Therneau TM, Greipp PR (2003) Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proceedings*, 78:21-33.
- M Krejci, T Buchler, R Hajek, A Svobodnik, A Krivanova, L Pour, Z Adam, J Mayer, J Vorlicek. (2005). Prognostic factors for survival after autologous transplantation : a single centre experience in 133 multiple myeloma patients. *Bone Marrow Transplantation*, 35, pp159–164.
- Saidi.M. (2013). Groupe d'étude et de traitement du Myélome en Algérie Xème Congrès Maghrébin d'hématologie Oran.
- Nikolaus Becker. (2011). Epidemiology of Multiple Myeloma. Recent results in cancer research. Fortschritte der Krebsforschung. *Progrès dans les recherches sur le cancer*, 183 :25-35 DOI : 10.1007/978-3-540-85772-3\_2
- Sparrow R.L, Komodoromou H, Tippett E, Georgakopoulos T, Xu W. (2006). Apoptotic lymphocytes and CD34+ cells in cryopreserved with loss of L-selectin (CD62L) expression. *Bone Marrow Transplant*, 61-7. Doi : 10.1038/sj.bmt.1705405. PMID: 16788684.
- Rajkumar SV, Lacy MQ, Kyle RA. (2007). Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. 255-65. doi: 10.1016/j.blre.2007.01.002. PMID: 17367905
- Riccardi O, Mora C, Tinelli P et al. (2000). « Long-term survival of stage I multiple myeloma given chemotherapy just after diagnosis or at progression of the disease: a multicentre randomized study ». *British Journal of Cancer*, 82(7): 1254-1260.
- Manier S, Leleu X. (2011). Myélome multiple : diagnostic clinique et perspective de traitement. Recommandations de l'international Myeloma Working Group (IMWG). *Immuno-Analyse et biologie spécialisée*, Bo 26, 125-136

Shah N, Ahmed F, Bashir Q, Qureshi S, Dinh Y, Rondon G, Wen S, Thall P, Khan H, Giralt S, Champlin R, Qazilbash MH. (2012). Durable remission with salvage second autotransplants in patients with multiple myeloma. *Cancer. Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*, 15;118(14): 3549-55. doi: 10.1002/cncr.26662. Epub 2011 Nov 15.

PMID: 22086552; PMCID: PMC4038445.

Tricot G, Jagannath S, Vesole D, Nelson J, Tindle S, Miller L, Cheson B, Crowley J, Barlogie B. (1995). Peripheral blood stem cell transplants for multiple myeloma: identification of favorable variables for rapid engraftment in 225 patients. *Blood, the flagship journal of the American Society of Hematology*, 15;85(2):588-96. PMID: 752906.

Available online on 15.11.2020 at <http://jddtonline.info>

# Journal of Drug Delivery and Therapeutics

Open Access to Pharmaceutical and Medical Research

© 2011-18, publisher and licensee JDDT, This is an Open Access article which permits unrestricted non-commercial use, provided the original work is properly cited



Open Access

Research Article

## Ethnobotanical survey on dandelion use in the western region of Algeria

Bekhaled Imene<sup>1\*</sup>, Benalia Abdelkrim<sup>2</sup>, Mehida Hayet<sup>3</sup>, Meziani Samira<sup>1</sup>, Tarfaoui Louiza<sup>1</sup>, Djebbar Ahmed Abdelhamid<sup>2</sup>, Demmouche Abassia<sup>1</sup>

1 Biotoxicology Laboratory. Department of Biology Faculty of Natural and Life Sciences, Djillali Liabes University of Sidibel Abbes, Algeria

2 Laboratory of Molecular Microbiology, Proteomics and Health. Department of biology. Faculty of Natural and Life Sciences University Djilali Liabes, Sidi-Bel-Abbes, Algeria

3 Environments and Health Research Laboratory. University Djilali Liabes, Sidi-Bel-Abbes, Algeria

### ABSTRACT

**Introduction:** Dandelion (*Taraxacum officinale*) is an edible and medicinal plant. We use the leaves, flowers and roots. The objective of this study is to show interest in the use of dandelion as a natural remedy in the primary treatment of several pathologies.

**Methods:** An ethnobotanical survey of 1000 people in the western region of Algeria was conducted using a questionnaire.

**Results:** the obtained results from this study show that 60% of the population questioned prefer traditional medicine the majority of them use the plant in the medical field whose leaves and roots are most used. Infusion and maceration are the most usable methods for the preparation of the plant and administration is exclusively oral. Most users testify that the plant has significant efficacy with a percentage of 61%.

**Conclusion:** All this information constitutes a database to perform other research in vivo or in vitro to value this plant on the therapeutic level.

**Keywords:** *Taraxacum Officinale*, traditional medicine, leaves, ethnobotanical study.

Article Info: Received 02 Sep 2020; Review Completed 17 Oct 2020; Accepted 26 Oct 2020; Available online 15 Nov 2020



Cite this article as:

Bekhaled I, Benalia A, Mehida H, Meziani S, Tarfaoui L, Djebbar AA, Demmouche A, Ethnobotanical survey on dandelion use in the western region of Algeria, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2020; 10(6):86-90  
<http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i6.4564>

\*Address for Correspondence:

Bekhaled Imene, Biotoxicology Laboratory. Department of Biology Faculty of Natural and Life Sciences, Djillali Liabes University of Sidibel Abbes, Algeria

### INTRODUCTION

For centuries, medicinal plants have occupied a very important place to relieve and cure several diseases, indeed there are about 500.000 species of plants of which 80,000 contain medicinal properties <sup>1</sup>.

Many plants grow spontaneously in different regions which are ignored despite their benefits effects among those plants we quote the pisenlit. This is an edible plant used for a long time in alternative medicine for the treatment of several diseases <sup>2</sup>.

*Taraxacum officinale* is a plant known as « Dandelion » which means lion's tooth by leaning on the serrated foliage <sup>3</sup>.

It belongs to the Asteraceae family, of the subfamily Cichorioideae, of the Lactuceae tribe <sup>4</sup>.

This plant is easily recognizable, it is a perennial herbaceous acaule that is, no rod is produced, the leaves emerge from a single bud at ground level, measuring between 5 and 30 cm <sup>5</sup>.

Phytochemical studies have demonstrated that dandelion contains phenolic compounds, sugars and a complex of many vitamins, it is also rich in minerals <sup>6</sup>. It also contains alkaloids, tannins, flavonoids and proteins <sup>3</sup>.

The virtues of this plant encourage researchers to conduct studies in order to test the different activities it has. This research is mainly related to antioxidant, anti-inflammatory and antidiabetic.

A study that was conducted in rats rendered obese to test the effect of dandelion extract on the evolution of plasma and tissue lipid parameters has shown that this extract has beneficial effects in the regulation of dyslipidemia and blood sugar also in the treatment of obesity <sup>7</sup>.

On the other hand, Colle D and his collaborators point out that *Taraxacum Officinale* fruit extract has a high antioxidant activity which protects brain slices from SNP-induced cell death and this activity is due to the presence of phenolic compounds <sup>8</sup>.

In addition, another study highlights the antioxidant activity of meth extracts from dandelion leaves that have been fractionated into different solvents. The results of this study show that ethyl acetate and butanol fractions have high antioxidant activity for all tests, however, the hexane fraction had low activity <sup>9</sup>.

A group of researchers evaluated the anti-inflammatory activity of dandelion *in vitro*. They took as a reference for the measurement of this activity the inhibition of the lysis of the HRBC membrane induced by hypotonia, the results show that the extract has significant anti-inflammatory activity due to its content of alkaloids, flavonoids and terpenoids <sup>10</sup>.

Moreover, the results obtained by Mr. Emir and his collaborators reveal that the methanolic and aqueous dandelion extract has inhibitory properties of  $\alpha$  amylase and  $\alpha$  glucosidase <sup>11</sup>.

Pharmacology and biotechnology are the main a for exploiting the different therapeutic effects of the plant. Despite all the benefits that possess this plant it is still little used.

The objective of this study was to identify this plant and to determine how to value it on the therapeutic level in the western region of Algeria.

## MATERIELS AND METHODS

This is an ethnobotanical study that was carried out between July 2019 and March 2020 among 1000 people randomly interviewed in the Western region of Algeria with the objective of describing the use of dandelion in the treatment of different pathologies. This survey was carried out using a pre-determined questionnaire, The data collected are : sex, age, academic level, family status, place of residence and use of the plant.

All data was recorded and analyzed by IBM SPSS software version 25.

## RESULTS AND DISCUSSION



**Figure 1 : Distribution by plant Knowledge**

### Description of the population questioned

The use of dandelion is wide spread in all age groups with a peak for people between 20 and 40 years of age, the average age is 42 years with extremes ranging from 20 years to 89 years. On the other hand, in people over the age of 65 the use of the plant is very reduced. Men and women were affected by this survey, in fact 56% of those questioned were women, while 44% were men (Table N°1).

Moreover, the analysis of the data shows that the majority of people using the plant are academics with a percentage of 45.8% come next secondary, primary and illiterate levels with a low percentage of 4%.

71% of users of this plant were city dwellers while 29% were villagers, married people use the plant much more with a rate of 73% than single people who were 27%.

**Table 1: Distribution of the population questioned**

| Parameter                               |                | Number | Percentage % |
|---|----------------|--------|--------------|
| <b>Age</b>                              | 20 à 40 ans    | 483    | 48,3         |
|   | 40 à 60 ans    | 351    | 35,1         |
|   | Plus de 60 ans | 166    | 16,6         |
| <b>Sex</b>                              | Women          | 560    | 56           |
|   | Men            | 440    | 44           |
| <b>Level of education</b>               | Illiterate     | 40     | 4,0          |
|   | Primary        | 163    | 16,3         |
|   | Secondary      | 338    | 33,8         |
|   | University     | 458    | 45,8         |
| <b>Place of residence</b>               | City           | 710    | 71           |
|   | Town           | 290    | 29           |
| <b>Distribution by family Situation</b> | Single         | 270    | 27           |
|   | Married        | 730    | 73           |

In our study area more than 50% of people prefer traditional medicine as well as women are more concerned with alternative medicine with a percentage of 60% (Figure 2).The plant is much more used in medicine and little used in the industrial and cosmetic field indeed the majority of studies focus on the different therapeutic effects (Figure N°3).

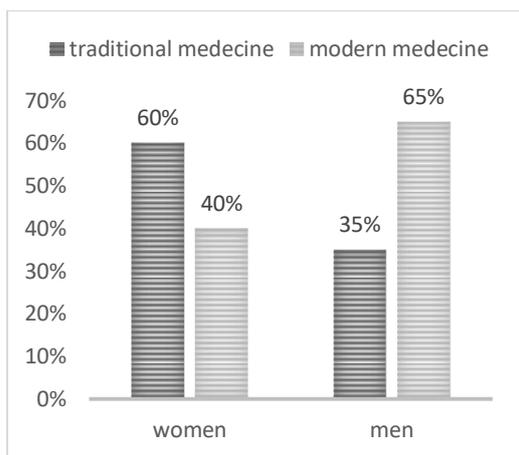


Figure 2: Frequency distribution between modern and traditional medicine

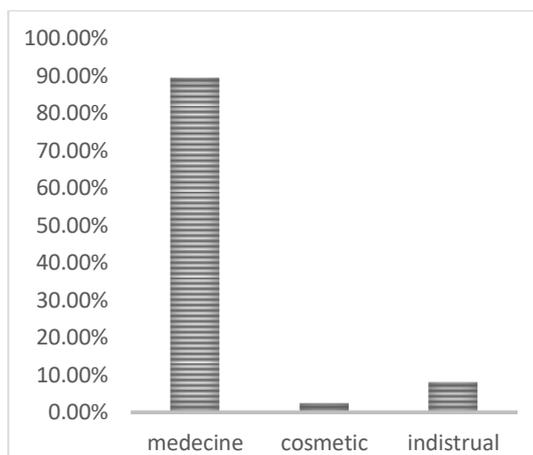


Figure 3: Distribution according to the domain of use

Description of how the plant used

Table 2 : Distribution by mode of use

|                               |                | Number |     |                 | Percentage % |    |                 |
|-------------------------------|----------------|--------|-----|-----------------|--------------|----|-----------------|
|                               |                | Yes    | No  | Not wide spread | Yes          | No | Not wide spread |
| <b>Part used</b>              | Flowers        | 313    | 110 | 573             | 31           | 11 | 58              |
|                               | Roots          | 273    | 160 | 567             | 27           | 16 | 57              |
|                               | Seeds          | 189    | 233 | 578             | 19           | 23 | 58              |
| <b>Condition of the plant</b> | Fresh          | 212    | 149 | 839             | 21           | 15 | 64              |
|                               | Dry            | 293    | 151 | 550             | 29           | 16 | 55              |
| <b>Mode of preparation</b>    | Infusion       | 230    | 130 | 640             | 23           | 13 | 64              |
|                               | Maceration     | 111    | 248 | 641             | 11           | 25 | 65              |
|                               | Poultice       | 89     | 271 | 640             | 9            | 27 | 64              |
|                               | Decoction      | 111    | 245 | 644             | 11           | 25 | 64              |
|                               | Other          | 149    | 269 | 582             | 15           | 27 | 58              |
| <b>Method of use</b>          | Oral           | 281    | 79  | 640             | 28           | 08 | 64              |
|                               | Inhalation     | 37     | 323 | 640             | 4            | 32 | 64              |
|                               | Other          | 201    | 244 | 555             | 20           | 24 | 56              |
| <b>Treated pathologies</b>    | Dermatological | 119    | 238 | 563             | 12           | 24 | 56              |
|                               | Renal          | 114    | 245 | 641             | 11           | 25 | 64              |
|                               | Reospiratory   | 75     | 284 | 680             | 8            | 28 | 68              |
|                               | Hematological  | 219    | 139 | 642             | 22           | 14 | 64              |
|                               | Metabolic      | 96     | 262 | 642             | 10           | 26 | 64              |
|                               | Gastric        | 194    | 176 | 630             | 19           | 18 | 64              |

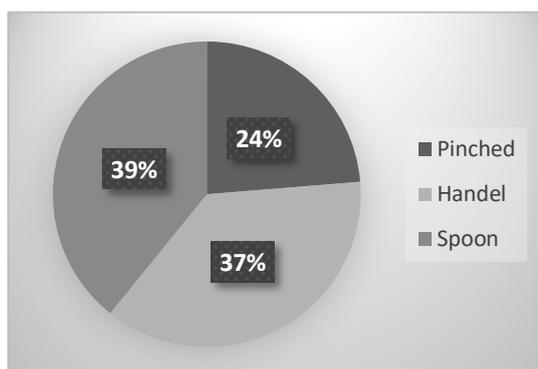


Figure 4 : Distribution according to the dose used

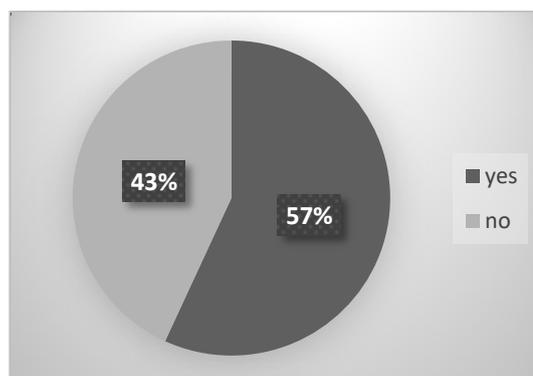


Figure 5: Distribution by Side Effect

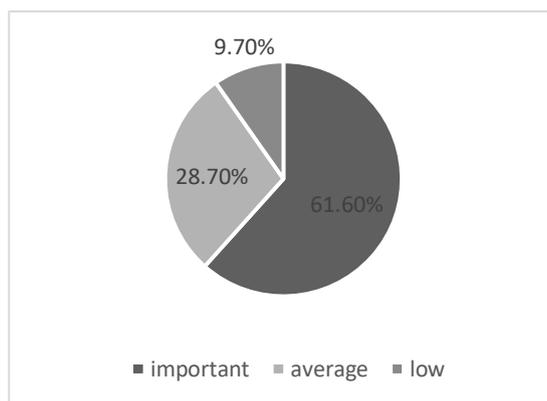


Figure 6: Distribution by plant efficacy

## DISCUSSION

Dandelion is a medicinal plant that has many benefits, the obtained results reveal a 65% of the respondents do not know the plant, despite it is a real nutritional bomb. However, this plant is unknown because it does not grow in our study area.

Medicinal plants are used as the main source of treatment in 80% of the population in developing countries <sup>12</sup>.

In this edible plant all is used flowers, roots and leaves. Dandelion leaves are rich in minerals, multiple vitamins, flavonoids, terpenoids, choline, bitter glucosides, beta-carotene and xanthophylla, on the other hand, the roots are rich in bitter glucosides, tannins, sterols, volatile oils, taraxacin, taraxacerin, triterpenes, asparagine and insulin <sup>13</sup>.

Preparations may contain a single compound or a mixture of all three. Examination of the data showed that the majority of people using the plant use flowers and roots, but few people use the leaves. However, there are various ways to consume and conserve plants. The majority of studies focus on the evaluation of leaf and root extracts <sup>10</sup>. The survey shows that the plant is used after drying.

In order to facilitate the administration of the active ingredient, different methods are used for the preparation of dandelion. Infusion is the most used followed by maceration, decoction and poultice. Other users consume fresh leaves in salads.

Plant users in our area use the plant with inaccurate doses, of which 39.20% per spoon, 37.10% per handle and 23.70% per pinch.

Since ancient times many people use dandelion for these healing properties especially in Chinese medicine or it is used for treating liver diseases <sup>14</sup>.

Health authorities such as the WHO, the EMA, the European Commission or the ESCOP, recognize the traditional use of

this plant for certain indications such as: increased diuresis in urinary tract conditions, relief of symptoms related to mild digestive disorders, antioxidant, anti-inflammatory, anti-diabetic and full of other therapeutic and diuretic effects <sup>15; 16</sup>.

Dandelion has been used for centuries to stimulate digestion <sup>17</sup>. In other parts, a group of patients with colitis used dandelion roots in combination with other plants, the results obtained show a reduction in pain in 96% of the patients <sup>18</sup>. The study of Jeon et al found that the etheric extracts from the aerial parts reduce the rate of inflammation. In addition, other studies suggest that this activity is due to the presence of phenylpropanoids <sup>19; 20</sup>.

A literature review published in 2020 also highlights that dandelion has hepatoprotective effects against chemical agents due to its antioxidant and anti-inflammatory effects <sup>21</sup>.

Results obtained by Funke et al show that the aqueous extract of the aerial parts of *Taraxacum Offinale* inhibits the action of  $\alpha$ -amylase in 20-40% <sup>22</sup>. Similar results were found by Emir et al which showed that the aqueous and methanolic dandelion extract has inhibitory activities of  $\alpha$  amylase and  $\alpha$  glucosidase <sup>11</sup>.

Research carried out by Racz-Kotilla et al on mice shows that a consumption of 2 g/kg of dandelion leaves has diuretic activity as long as dandelion is rich in potassium <sup>23</sup>.

Moreover, the German Commission E confirms the use of dandelion as a diuretic and also for the treatment of anorexia, dyspepsia and biliary abnormalities <sup>24</sup>.

Statistical analysis shows the difference in opinions regarding the side effects of the plant. Indeed 43% say that the plant has no side effects whereas 57% of people using the plant testify that the plant has adverse effects.

Toxicological studies on dandelion are very limited. However, depending the chemical composition and the use of the plant, there are no adverse effects. To date, no side effects have been reported. The only element reported is the possibility of dermatitis in contact with dandelion latex <sup>15; 4</sup>. On the other hand, a study carried out by Akhtar MS et al in rats evaluated a rate of 3-6g/l for whole plant consumption <sup>25</sup>.

Moreover, a study in wistar rats showed that dandelion root extract is slightly toxic with an LD50 of 500 to 5000 mg/kg <sup>26</sup>.

Statistical analysis shows the difference in opinions regarding the side effects of the plant. Indeed 43% say that the plant has no side effects whereas 57% of people using the plant testify that the plant has adverse effects.

## CONCLUSION

Dandelion is a plant whose benefits have been discovered since ancient times, this plant forgotten nowadays, yet is an excellent medicinal plant with exceptional virtues. This survey revealed a multitude of results on the parts used, mode of preparation as well as the diseases treated.

The analysis of the results shows that academics predominate with a percentage of 45.8%, leaves and roots are the most used parts. This study also shows that the plant is used to treat hematological conditions in the first position followed by gastric pathologies. This information provides a database for further in vivo or in vitro research to improve the use of this plant.

**Conflicts of Interest:** No potential conflicts of interest reported by the authors

## REFERENCES

- [1] Quyou, A. Mise au point d'une base de données sur les plantes médicinales. Exemple. 2003 d'utilisation pratique de cette base. Thèse de Doct. Univ. Ibn Tofail. Fac. Sci. Kénitra, Maroc. 110 p.
- [2] Martinez M, Poirrier P, Chamy R, D Prüfer, C Schulze-Gronover, L Jorquera, G Ruiz. Taraxacum officinale and related species-An ethnopharmacological review and its potential as a commercial medicinal plant.] *Ethnopharmacol.* 2015; 169:244-262. doi:10.1016/j.jep.2015.03.067
- [3] Abdul Kadir M. N. Jassim, Safanah Ahmed Farhan, Omar Mohammed Noori, Identification of Dandelion Taraxacum officinale Leaves Components and Study Its Extracts Effect on Different Microorganisms. *Journal of Al-Nahrain University.* 2012; 15(3):7-14.
- [4] Katrin Schütz Reinhold Carle Andreas Schieber. *Taraxacum*—A review on its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006; 107(3):313-323
- [5] Coralie Bergeerault. Les plantes sauvages en gastronomie : précautions à prendre et risques d'intoxications par confusions avec des plantes toxiques. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Nantes. 2010.
- [6] Eric Yarnell, ND, RH (AHG), Kathy Abascal, JD, RH (AHG). Dandelion (Taraxacum Officinale and T monogolicum). *Integrative Medicine.* 2009; 8(2).
- [7] LIFA Fatma Zohra, LIFA Saoussane. L'Effet de l'extrait aqueux de Taraxacum officinale sur les paramètres lipidiques plasmatiques et tissulaires chez des rats rendus obèses par régime café-téria. *Université de Eloued.* 2019; 572.01/097.
- [8] Colle D, Arantes LP, Gubert P, Sônia Cristina Almeida da Luz, Margareth Linde Athayde, João Batista Teixeira Rocha, Félix Alexandre Antunes Soares. Antioxidant properties of Taraxacum officinale leaf extract are involved in the protective effect against hepatotoxicity induced by acetaminophen in mice. *J Med Food.* 2012; 15(6):549-556. doi:10.1089/jmf.2011.0282
- [9] Tettey, Ocloo, Augustine, Nagaiyothi, Lee. Antioxidant Activity of Solvent Fractions of Taraxacum officinale (Dandelion) Leaves. *Journal of Herbs Spices & Medicinal Plants* 2014; 20(4). DOI: 10.1080/10496475.2013.871382
- [10] M. Amin Mir, S.S. Sawhney, Manmohan Singh Jassal. Taraxacum officinale Herb as an Antiinflammatory Medicine. *American Journal of Advanced Drug Delivery.* ISSN 2321-547X 2015; 160-180.
- [11] M. Amin Mir, S. S. Sawhney, M. M. S. Jassal. In-vitro antidiabetic studies of various extracts of Taraxacum officinale. *The Pharma Innovation Journal* 2015; 4(1):61-66.
- [12] Bodeker C, Bodeker G, Ong CK, Grundy CK, Burford G, Shein K. WHO Global Atlas of Traditional, Complementary and Alternative Medicine. Geneva, Switzerland: World Health Organization. 2005.
- [13] Sheezan Rasoo, Bharti Sharma, Taraxacum officinale: a high value less known medicinal plant. *Annals of Plant Sciences*, 2014; 3(12):908-915.
- [14] Fonyuy E Wirngo, Max N Lambert, Per B Jeppesen, The Physiological Effects of Dandelion (*Taraxacum Officinale*) in Type 2 Diabetes. *Summer-Fall*; 2016; 13(2-3):113-131.
- [15] EMA (Eurepean Medicines Agency). Assessment report on Taraxacum Officinale Weber ex Wigg; radix cum herba. *Eur. Med. Agency*, 2009; p.19.
- [16] K Schütz, R Carle, A Schieber. Taraxacum- a review on its phytochemical and pharmacological profile. *J. Ethnopharmacol*, 2006; 107(3):313-323.
- [17] Pizzorno JE, Murray MT. *Textbook of Natural Medicine.* London: Churchill Livingstone, 1999; 979-982.
- [18] Chakurski I, Matev M, Koichev A, I Angelova, G Stefanov. Treatment of chronic colitis with an herbal combination of Taraxacum officinale, Hipericum perforatum, Melissa officinalis, Calendula officinalis and Foeniculum vulgare [Article in Bulgarian]. *Vutr Boles*, 1981; 20:51-54.
- [19] Hu C, Kitts DD. Dandelion (Taraxacum officinale) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro. *Phytomedicine*, 2005; 12(8):588-597
- [20] Yasukawa K, Akihisa T, Inoue Y, Tamura T, Yamanouchi S, Takido M. Inhibitory effect of the methanol extracts from compositae plants on 12-O tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced ear oedema in mice. *Phytother Res*, 1998; 12(7):484-487.
- [21] Mohaddese Mahboubi, Mona Mahboubi, Hepatoprotection by dandelion (Taraxacum officinale) and mechanisms. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*; 2019; 10(1):1-10.
- [22] Funke I, Melzig MF. Traditionally used plants in diabetes therapy: phytotherapeutics as inhibitors of  $\alpha$ -amylase activity. *Braz J Pharmacognosy*, 2006; 16:1-5.
- [23] Racz-Kotilla E, Racz G, Solomon A. The action of Taraxacum officinale extracts on the body weight and diuresis of laboratory animals. *Planta Med*, 1974; 26:212-217.
- [24] Blumenthal M, Busse WR, Goldberg A, Werner R., *The Complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines.* Austin: American Botanical Council and Boston: Integrative Medicine Communications. 1998.
- [25] Muhammad Shoaib Akhtar, Qaiser Mahmood Khan, Tanweer Khaliq (1985) Identification of Dandelion Taraxacum officinale Leaves Components and Study Its Extracts Effect on Different Microorganisms. *Journal of Al-Nahrain University*; 2012; 15(3):7-14
- [26] Bekhaled I, Benalia A, Mehida H, Meziani S, Tarfaoui L, Djebbar AA, Mai AH, Bensaid I, Demmouche A. Evaluation of the Acute Toxicity of Dandelion (Taraxacum officinale) Roots. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics.* 2020; 10(3):159-163.

Available online on 15.05.2020 at [jddtonline.info](http://jddtonline.info)

# Journal of Drug Delivery and Therapeutics

Open Access to Pharmaceutical and Medical Research

© 2011-18, publisher and licensee JDDT, This is an Open Access article which permits unrestricted non-commercial use, provided the original work is properly cited



Open Access

Research Article

## Evaluation of the Acute Toxicity of Dandelion (*Taraxacum officinale*) Roots

Bekhaled Imene<sup>1\*</sup>, Benalia Abdelkrim<sup>2</sup>, Mehida Hayet<sup>3</sup>, Meziani Samira<sup>1</sup>, Tarfaoui Louiza<sup>1</sup>, Djjebar Ahmed Abdelhamid<sup>2</sup>, Mai Abdesselam Hichem<sup>1</sup>, Bensaid Ilias<sup>1</sup>, Demmouche Abassia<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Biotoxicology Laboratory. Department of Biology. Faculty of Natural and Life Sciences. Djilali Liabès University, Sidi-Bel-Abbès. Algeria

<sup>2</sup> Environments and Health Research Laboratory. University Djilali Liabès, Sidi-Bel-Abbes, Algeria

<sup>3</sup> Department of Biology. Faculty of Natural and Life Sciences. Djilali Liabès University, Sidi-Bel-Abbès. Algeria

### ABSTRACT

**Introduction:** Dandelion (*Taraxacum officinale*) is a medicinal plant used in alternative medicine for its multiple therapeutic and preventive properties. However, insufficient data are available about its toxicity.

**Materials and methods:** dandelion roots total extract was prepared by maceration for 24 hours and its toxicity was then assessed on 30 Wistar male rats divided into four experimental groups receiving the extract at different rates, and one control group treated with the vehicle. Changes in renal, hepatic, lipid, and hematological parameters as well as signs of acute toxicity were noted during 15 days after the one dose extract administration.

**Results and discussion:** The obtained results reveal a very significant ( $p < 0.01$ ) disruption of transaminases but not renal, lipid and hematological parameters.

The acute toxicity study demonstrated that dandelion roots extract has low intraperitoneal toxicity with a LD50 ranged between 500 and 5000 mg/kg.

**Conclusion:** Dandelion's richness in secondary metabolites and its low *in vivo* toxicity make it a good candidate as a source of drugs with anti-inflammatory and anti-cancer properties.

**Keywords:** Dandelion, Acute toxicity, LD50, Transaminases, lipids, hematology

**Article Info:** Received 12 March 2020; Review Completed 24 April 2020; Accepted 02 May 2020; Available online 15 May 2020



### Cite this article as:

Bekhaled I, Benalia A, Mehida H, Meziani S, Tarfaoui L, Djjebar AA, Mai AH, Bensaid I, Demmouche A, Evaluation of the Acute Toxicity of Dandelion (*Taraxacum officinale*) Roots, Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2020; 10(3):159-163 <http://dx.doi.org/10.22270/jddtv10i3.4093>

### \*Address for Correspondence:

Bekhaled Imene, Department of Biology. Faculty of Natural and Life Sciences. Djilali Liabès University. Sidi-Bel-Abbès, Algeria

## I. INTRODUCTION

Dandelion is an edible and medicinal perennial plant that grows almost anywhere but more communally in temperate regions of the world <sup>1</sup>. This plant is a part of the Asteraceae family originally found in Europe, North and South America and Asia <sup>2</sup> and it is considered as a potent medicinal plant (RENISUS) <sup>3</sup>.

Phytochemical studies have demonstrated that dandelion contains phenylpropanoids, polysaccharides <sup>4</sup>, flavonoids, hydroxycimanic acids, chlorogenic acid and coumarins. Dandelion leaves are rich in vitamins including  $\beta$  carotene, choline and trace elements such as iron, magnesium, silicon, sodium, potassium, copper, zinc and phosphorus <sup>5</sup>. On the other hand, the roots are rich in bitter glycosides, tannins,

sterols, volatile oils, taraxacin, taraxacerins, triterpenes, asparagine and insulin <sup>6</sup>.

The benefits of dandelion have been demonstrated since the antiquity, especially in traditional Chinese medicine where it is used to treat liver diseases as well as for its antibacterial activity <sup>7</sup>. The authors of a meta-analysis paper published in 2020 also point the dandelion hepatoprotective effects against chemical agents through its antioxidant and anti-inflammatory effects <sup>8</sup>.

Research on this plant focuses on its antioxidant, anti-inflammatory and anti-diabetic activity. The study of Sumath M and Rana A on rats showed that dandelion extract have an important antioxidant and diuretic activity <sup>9</sup>. In another *in vitro* study, flavonoids and coumaric acid derivatives

contained in the dandelion flowers showed a strong antioxidant activity<sup>10</sup>.

On the other hand, preliminary clinical trials show that the use of fresh leaf extract of dandelion increases fluid excretion in healthy people<sup>11</sup> and decreases glycaemia after its ingestion in non-diabetic people<sup>12</sup>. In addition, another clinical trial shows that dandelion has anti-atherogenic properties by lowering cholesterol levels<sup>13</sup>.

Although dandelion has important therapeutic effects, toxicological studies on it are very limited and only few researches have shown mild hypotension and a possible allergic contact dermatitis in people with lactone hypersensitivity<sup>3</sup>. Hence, we proposed to study the toxicity of dandelion roots. The aim of this study is to assess the effect of acute toxicity of dandelion roots extract in Wistar rats in order to confirm its safety as an alternative treatment.

## II. MATERIAL AND METHODS

### II.1 Plant

The dandelion samples were obtained from Moselle, France. The roots of this plant were washed, dried in open air and in darkness, and then powdered using an electronic grinder.

30 g of this powder were macerated in 300 ml of 70% ethanol under stirring for 12 hours and then filtered through a Whatman paper. After that, the filtrate was evaporated and the extract was dried in the oven for 24 hours. Samples administered to the rats were diluted in a 5% ethanol solution.

### II.2 Animals

25 Albino Wistar rats of 250g of weight and aged of 3 months were obtained from Pasteur Institute in Algiers, Algeria. Animals were fed a standard diet and had a free access to food and water. They were divided into 4 groups (From G1 to G4) (N=6) treated with the prepared extract at 400, 800, 1600 and 2000mg/kg; and controls (G5) that received the vehicle via a one dose Intraperitoneal injection.

Experimentations were carried out according to the ethical conditions approved by the committee of our university.

### II.3 Determination of LD50

The animals were observed for 2 hours after injection to determine immediate death and then for 15 days for toxicity assessment. Toxicity signs include hypoactivity, breathing difficulty, coma and swelling in the injection site. The number of deaths was reported during the 15 days of observation to determine the lethal dose resulting in 50% death LD50.

The LD50 was calculated according to the following equation:

$$LD50 = LD100 - (\Sigma (a \times b)/n)$$

LD100 = Dose resulting in 100% death;

a = average of deaths between two successive doses;

b = difference between two successive doses;

n = number of animals used per group<sup>14</sup>.

At the end of the experimental period, animals were fasted for 24 hours, anaesthetized and sacrificed. Blood samples were collected in EDTA and heparin tubes for hematological, hepatic, renal and lipid parameters.

### II.4 Biochemical analysis

Blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 15 min and plasma was then separated. Creatinine assay based on the reaction of creatinine with sodium picrate and urea assay based on the enzymatic hydrolysis of urea into ammonia (NH<sub>4</sub>) and carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) ions were carried out in order to determine the renal profile. Transaminases levels were determined by a colorimetric methods using Biomaghreb® kit and used for hepatic function evaluation. Glucose and lipid profile (total cholesterol and triglycerides) based on enzymatic reactions were also analyzed by a colorimetric method based on Quinone production.

### II.5 Hematological determination

For the evaluation of hematological parameters, samples were collected in EDTA tubes for blood count. The assay was performed using a SYSMEX XN-550 SYSMEX XS-1000i automated system.

### II.6 Statistical analysis

Results were analyzed using IBM SPSS.25 software. We used the ANOVA test for the analysis of the dataset followed by a post-Hoc Tukey test for multiple comparisons between the different groups. A value of p<0.05 is considered significant for all tests.

In the statistical analysis, we eliminated the 2000mg group which corresponds to the 100% lethal dose and the 1600mg group in which only one animal stilled alive at the end of the experiments.

## III. RESULTS AND DISCUSSION

### III.1 Evaluation of signs of acute toxicity of dandelion root extract

Results of toxicity assessment and mortality of rats exposed to the dandelion roots extract are shown in Table 1.

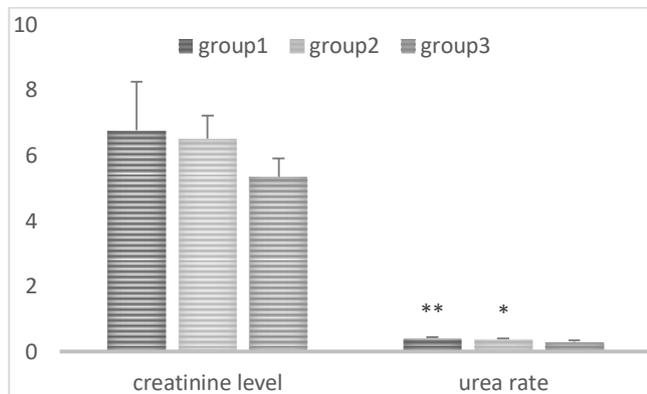
Table 1: Behavior and signs of toxicity of dandelion roots extract of rats

| Groups                         | G1  | G2  | G3   | G4   | Controls (G5) |
|--------------------------------|-----|-----|------|------|---------------|
| Dose mg/kg                     | 400 | 800 | 1600 | 2000 | Ethanol 5%    |
| Normal behavior                | +   | +   | -    | -    | +             |
| Abnormal gait                  | -   | -   | +    | +    | -             |
| Reduced activity               | -   | +   | +    | +    | -             |
| Breathing difficulty           | -   | -   | -    | -    | -             |
| Coma                           | -   | -   | +    | +    | -             |
| Blood in the urine             | -   | -   | -    | -    | -             |
| Mortality                      | -   | +   | +    | +    | -             |
| Swelling of the injection part | -   | -   | -    | -    | -             |

(+presence, - absence).

**III.2 effect of dandelion root extract on kidney parameters**

Creatinine levels in rats treated with the extract showed no significant difference from controls. However, a very significant increase of urea level was noted in group 1 and group 2 as compared to controls (Fig. 1).

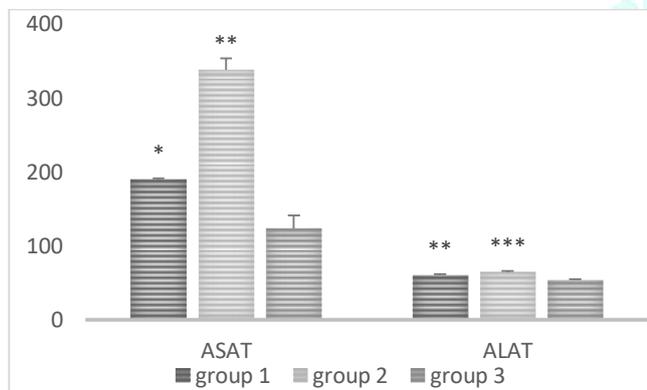


**Figure 1: Evaluation of creatinine (mg/dl) and urea (g/dl) levels.**

Results are represented as mean and standard deviation, \* significant difference (p<0.05), \*\* highly significant difference (p<0.01). Group 1: 400mg dose, group 2: 800mg dose, group 5: control.

**Effect of dandelion root extract on hepatic parameters**

Our results showed a significant increase in ASAT levels in groups 1(p<0.05) and group 2 (p<0.01). The extract effect was much higher on ALAT level, which was highly increased as compared to controls (Fig. 02).



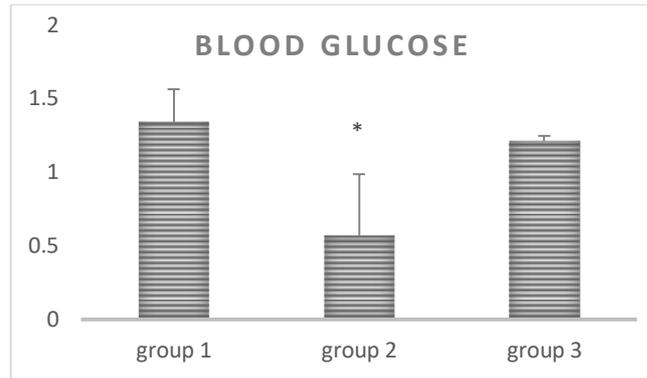
**Figure 2: Evaluation of the ASAT and ALAT rate (UI)**

\*significant difference (p<0.05), \*\*highly significant difference (p<0.01), \*\*\*highly significant difference (p<0.001).

**c. Effect of dandelion root extracts glucose level**

Statistical analysis of the of the blood glucose results shows a significant difference for all groups. Acute hypoglycemia

was noted in rats treated with the extract at 800mg/kg (Fig. 3).

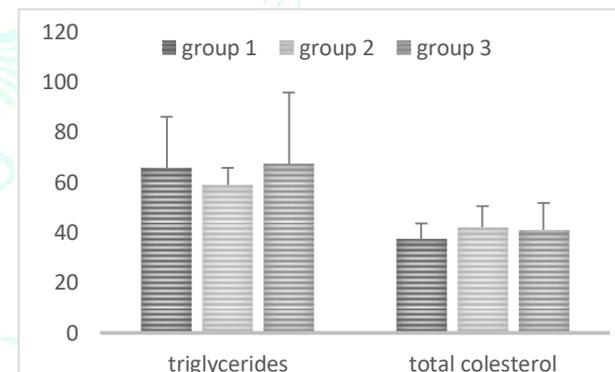


**Figure 3: Evaluation of the blood glucose level g/l**

\*significant difference (p<0.05), \*\*highly significant difference (p<0.01), \*\*\*highly significant difference (p<0.001).

**d. Evaluation of the lipid profile**

Fig.4 summarizes the variation of some lipid parameters (total cholesterol and triglycerides) of the rats that received the extract compared to controls. No significant differences were noted between the experimental and the control groups as for total cholesterol and triglycerides. Although, the triglyceride levels observed in the group 2 are low as compared to the control group.



**Figure 4: Evaluation of total cholesterol level and triglycerides in rats treated with dandelion root extract.**

**II.4 Assessment of the haematological profile of rats**

The evaluation of hematological parameters of rats treated with dandelion roots extract are presented in Table 2. Rats treated with the roots extract maintained normal levels of all haematological parameters and no significant changes were observed. This indicates the absence of toxic effects of the extract on blood constituents.

**Table 2: Evaluation of haematological parameters**

| Group                               | Group 1   | Group 2    | Group 5      |
|-------------------------------------|-----------|------------|--------------|
| Rate GB 10 <sup>3</sup> /μl         | 5.95±2.04 | 2.1±0.42   | 4.96±1.33    |
| GR Rate 10 <sup>3</sup> /μl         | 7.74±0.14 | 7.65±0.12  | 7.79±0.52    |
| Hemoglobin level g/dl               | 12.1±0.11 | 11.3±0.84  | 12.46±0.66   |
| Platelet levels 10 <sup>3</sup> /μl | 630±74.66 | 787±205.06 | 556.66±39.79 |

#### IV. DISCUSSION

Dandelion is a medicinal plant that has exceptional virtues but multiples studies steel be needed in order to elucidate its toxicological and pharmaceutical proprieties. In our study, the acute toxicity signs of dandelion roots extract were abnormal behavior, coma and other severe signs leading to the death of the treated animals. We noted a total mortality (100%) in the fourth group that received 2000 mg/Kg of the roots extract 24 hours after the injection. The toxicity of herbal extracts depends on the route of administration and extracts can be toxic by a route and non-toxic another <sup>15</sup>. Applying the method of KARBER and BEHRENS, the LD50 of dandelion roots extract is determined at 1100mg/kg, <sup>14</sup>. LD50 of the whole plant was estimated at 3-6g/L <sup>16</sup>. According to the classification of Hodge and Sterner, dandelion roots extract can be classified as a low toxicity substance <sup>17</sup>.

Creatinine and urea are the main indicators of nephrotoxicity, although urea is considered a more reliable predictor of renal function than blood creatinine <sup>18</sup>. We noted that dandelion roots extract did not influence the creatinine level. These results are supported by those of Harlan Laboratoire in 2008. However, urea levels were statistically higher in treated animals when compared with the normal values of Urea in WISTAR rats <sup>19</sup>. In fact, this Urea disturbance cannot indicate a renal impairment as long as creatinine values are within the norms. Transaminases are the main enzymes for the evaluation of liver function; ALAT is a liver-specific enzyme and a sensitive indicator of hepatotoxicity whereas ASAT is found in liver, heart and muscle <sup>15</sup>. We noticed a significant increase in transaminases levels 15 days after the extract administration. Several drugs can cause an increase in hepatic parameters especially those with anti-inflammatory and antibiotic activity <sup>20</sup>. ALAT and ASAT are hepatic intracellular enzymes that may be released in blood in case of hepatic cell necrosis or hepatotoxicity due to drugs consumption <sup>15</sup>. The adverse effects that plants can cause on the liver are cytolytic hepatitis, veno-occlusive manifestations, acute or chronic hepatitis, steatosis and fibrosis <sup>21</sup>.

In our study, we noted an increase in transaminases especially for ASAT level in the groups treated with the roots extract. ASALT increase proportionalley to the extract concentration. This toxicity may be related to the presence of alkaloids in the dendelion root extract <sup>22</sup>.

Based on our data analysis, we recorded a significant decreased in blood glucose levels which was observed in the groups treated with high rates of the extract. Several studies have shown the hypoglycemic effect of dandelion <sup>12</sup>. Another study on mice confirms the hypoglycemic effect of dandelion extracts (Roberta et al, 2001). Similar results were also obtained by a group of researchers who tested the hypoglycemic effect of aqueous and ethalonic extracts of dandelion leaves and roots on streptozotocin-induced diabetic albino rats <sup>23</sup>. On the other hand, the study of <sup>24</sup> reveals that the methanolic and the aqueous extracts of dandelion have inhibitory properties of  $\alpha$  amylase and  $\alpha$  glucosidase. All these studies support that dandelion has a strong antidiabetic activity. This activity is explained by the presence of insulin in the chemical composition of the plant <sup>5</sup>. The evaluation of the lipid profile showed no significant disturbance in the treated groups as compared to the male WISTAR rats normal values <sup>19</sup>. Finally, no signs of hemato-toxicity were noticed and all the variances are within the norms <sup>19</sup>.

#### V. CONCLUSION

Medicinal plants are used nationwide in the treatment of certain pathologies due to their chemical compositions rich in phenolic compounds, minerals and multiple vitamins. Despite the entire curative and the preventive effects that these plants possess, they may be harmful and their toxicity needs to be studied. In the present study, the acute toxicity of dandelion roots extract was assessed in male WISTAR. We note that this is the first study concerning the dandelion roots toxicity.

Our results showed that the dandelion roots extract induce an increase in urea but not creatinine level, and in hepatic enzymes. In addition, we found that the extract administered to the rats did not cause any hematological or lipid disturbance. The acute toxicity study showed that the prepared extract may be classified as a relatively low acute toxicity commixture. We suggest that the dandelion roots extract is good candidate as a drug with anti-inflammatory and anti-cancer properties.

**Conflicts of Interests:** No potential conflict of interest reported by the authors

#### REFERENCES

- [1] Díaz K, Espinoza L, Alejandro Madrid, Leonardo Pizarro, Rolando Chamy. Isolation and identification of compounds from bioactive extracts of *Taraxacum Officinale* ex F. Wigg. (Dandelion) as a potential source of antibacterial agents. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2018, Article ID 2706417, 8 pages.
- [2] QURESHI S, ADIL S, ABD EL-HACK ME, ALAGAWANY M, FARAG MR, Beneficial uses of dandelion herb (*Taraxacum officinale*) in poultry nutrition. World's Poultry Science Journal. Volume 2017; 73(3):591-602
- [3] Faria T.C, Nascimento C. C. H. C, Vasconcelos S. D. D. De, Stephens P. R. S, Saranraj P, Barreto A. S, Diré G.F, Literature Review on the Biological Effects of *Taraxacum officinale* Plant in Therapy. Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development. 2019; 7(3):94-99.
- [4] Eric Yarnell, ND, RH (AHG), Kathy Abascal, JD, RH (AHG). Dandelion (*Taraxacum Officinale* and *T monogolicum*). Integrative Medecine. 2009; 8:2.
- [5] Fatima T, Bashir O, Naseer B, Hussain SZ, Dandelion: Phytochemistry and clinical potential. Journal of Medicinal Plants Studies; 2018; 6(2):198-202.
- [6] Rasoo S, Sharma B, *Taraxacum officinale*: a high value less known medicinal plant. Annals of Plant Sciences, 2014; 3(12):908-915
- [7] Wirngo FE, Max N Lambert, Per B Jeppesen The Physiological Effects of Dandelion (*Taraxacum Officinale*) in Type 2 Diabetes. Summer-Fall; 2016; 13(2-3):113-131.
- [8] Mahboubi M, Mahboubi M, Hepatoprotection by dandelion (*Taraxacum officinale*) and mechanisms. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine; 2020; 10(1):1-10.
- [9] Sumanth M, Rana A, In vivo antioxidant activity of hydro-alcoholic extract of *Taraxacum officinale* roots in rats. Indian J Pharmacol; 2006; 38 pNA.
- [10] Hu C, Kitts DD, Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro. Phytomedicine. 2005; 12(8):588-597
- [11] Bevin A, Clare, M.S, Richard S, Conoroy, Ph.D, Kevin Spelman, Ph.D (Cand). The diuretic in human subjects of an extract of *Taraxacum Officinale folium* over a single day. The journal of alternative and complementary medecine. 2009; 15(8):929-934.

- [12] Goksu. E, Eken.C, Karadeniz.O. First report of hypoglycemia secondary to dandelion (*Taraxacum Officinale*) ingestion. The American Journal Of Emergency Medecine. 2010; 28(1):11.
- [13] Mahboubi M, Mahboubi M, Hepatoprotection by dandelion (*Taraxacum officinale*) and mechanisms. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine ; 2019; 10(1):1-10.
- [14] Karber C, Behrens B, Wie sind Reihenversuche für biologische Auswertungen am Zweckmässigsten Anzuordnen Arch. Exp. Path. Pharm., 1935; 177:379- 388.
- [15] GOME MB, KOUAKOU K, TOURE A, TRAORE F, Étude de la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux de *Passiflora foetida* Linn. (Passifloraceae) chez les rats et les souris. Int. J. Biol. Chem. Sci. 2011; 5(5):1777-1789
- [16] Akhtar MS, Khan QM, Khaliq T, Identification of Dandelion *Taraxacum officinale* Leaves Components and Study Its Extracts Effect on Different Microorganisms. Journal of Al-Nahrain University. 2012; 15:37-14
- [17] Hodge H.C, Sterner J.H, Determination of substance acute toxicity by LD50. American Industrial Hygien Association; 1943; 10:93.
- [18] LOE GE, NGABA GP, KAMDOM M, MPONDO E, DIBONG SD, Evaluation des activités anti-inflammatoire et antiradicalaire de l'extrait au vin de palme des feuilles de *Phragmanthera capitata* (Sprengel) S. Balle (Loranthaceae) récoltées sur *Psidium guajava* au Cameroun. Int. J. Biol. Chem. Sci. 2018; 12(1):233-243.
- [19] Harlan and the Harlan logo are trademarks of Harlan Laboratories, Inc. © 2014 Harlan Laboratories, Inc.
- [20] Bragança DS, AGiostra E. « Elévation des tests hépatiques », (2017) Hôpitaux universitaires Genève, Suisse. [https://www.hugge.ch/sites/interhug/files/structures/medecine\\_de\\_premier\\_recours/Strategies/strategie\\_tests\\_hepatiques.pdf](https://www.hugge.ch/sites/interhug/files/structures/medecine_de_premier_recours/Strategies/strategie_tests_hepatiques.pdf)
- [21] Fall M, Boukandou M, Fall AD2, Cabral M, Diatta W, Gueye PM, Faye M, Bakou SN, Mendes V, Bassene E, Diouf A. Toxicité aiguë et subaiguë d'extrait aqueux de feuilles d'APHANIA SENEGALENSIS (JUSS. EX POIR.) sur des rats wistar acute and sub-acute toxicity of the aqueous extract from APHANIA SENEGALENSIS (JUSS. EX POIR.) leaves in wistar rat. Dakar Med; 2011; 56(1).
- [22] Assim AKMN, Farhan SA, Noori OM, Identification of Dandelion *Taraxacum officinale* Leaves Components and Study Its Extracts Effect on Different Microorganisms. Journal of Al-Nahrain University. 2012; 15(3):7-14.
- [23] namdi CC, Uwakwe AA, Chuku LC, Hypoglycemic effects of aqueous and ethalonic extracts of dandelion (*Taraxacum Officinale* F.H. WIGC) leaves and roots on streptozotocin - induced albinos rats. Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine; Koppa 2012; 1(6):211-217.
- [24] Mir MM, Sawhney SS, M. JassalMS, In-vitro antidiabetic studies of various extracts of *Taraxacum officinale*. The Pharma Innovation Journal 2015; 4(1):61-66.



Le myélome multiple ou la maladie de Kahler est une hémopathie caractérisée par la prolifération médullaire d'un clone plasmocytaire anormale sécrétant une immunoglobuline monoclonale. A l'heure actuelle le myélome multiple reste une maladie incurable.

Ces dernières années la médecine alternative occupe une place importante afin de soulager et guérir plusieurs maladies.

Ce travail consiste à évaluer l'activité anti-myéломateuse du pissenlit (*Taraxacum officinale*) chez les rats wistar et réaliser une étude sur le profil épidémiologique, clinique, biologique et biochimique portant sur l'intérêt des dosages sériques et urinaires dans le diagnostic et le suivi thérapeutique du myélome multiple et aussi voir la place de l'autogreffe comme une stratégie thérapeutique.

A cet égard, nous avons réalisé une étude expérimentale sur des rats wistar et une étude épidémiologique rétrospective sur 419 patients myéломateux.

L'étude épidémiologique a révélé que l'hypoalbuminémie, l'hyperprotidémie et l'hypercalcémie sont fréquents chez la majorité des patients. Aussi nous avons noté une migration prédominante des immunoglobulines dans la zone gamma. D'autre part, sur le plan hématologique nous avons enregistré une anémie, une leucopénie, la présence des hématies en rouleaux et des plasmocytes malins.

La greffe des cellules souches hématopoïétiques est considérée comme le protocole standard chez les patients moins de 65 ans. L'analyse des données montre des résultats significatifs entre l'âge du patient et le nombre de CD34+. D'autre part, les résultats obtenus révèlent une corrélation hautement significative entre la cryothérapie et la survie globale. De plus cette étude montre un taux de survie globale de 5 ans.

Les résultats obtenus par l'étude pharmaco-botanique auprès de 1000 personnes montrent que 70% des personnes questionnés ne connaissent pas la plante. Les feuilles et les racines constituent les parties les plus utilisées. Cette étude révèle que la majorité des utilisateurs consomment la plante pour traiter les affections hématologiques en première position suivi par les affections gastriques.

L'étude de la toxicité d'extrait de racines a montré une perturbation très significative ( $p < 0.01$ ) des transaminases. Aucune différence significative n'a été observée pour les paramètres hématologiques et lipidiques. D'autre part, cette étude a démontré que l'extrait de racines de pissenlit est faiblement toxique par voie intrapéritonéale avec une DL50 comprise entre 500-5000 mg/kg

L'induction du myélome multiple chez le rat wistar a été réalisée avec succès. En effet, des perturbations hautement significatives des différents paramètres biochimiques, lipidiques et hématologiques ont été observées. Cependant, nous avons enregistré une hyperprotidémie, hypoalbuminémie, augmentation des transaminases, hypercréatinémie, hypercholestérolémie, leucopénie et anémie. D'autre part, l'électrophorèse des protéines sériques a montré un pic monoclonal dans les zones gamma et béta. L'analyse du frottis sanguin et myélogramme a montré la présence des hématies en rouleaux et des plasmocytes malins. En outre, chez les rats traités par l'extrait de racines et l'extrait combiné (feuilles et racines) nous avons noté une amélioration très significative. Le taux de globules blancs, d'hémoglobine, d'albumine, des protides totaux s'est normalisé. L'électrophorèse des protéines sérique a montré que 75% des rats traités avec l'extrait de racines avaient un profil normal contre 50% des rats traités avec l'extrait combiné.

**Mots clés :** myélome multiple, plasmocytes malins, dosages sériques et urinaires, suivi thérapeutique, *Taraxacum Officinale*.