

UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTÉS DE MÉDECINE

ANNÉE 2016

2016 TOU3 1512

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE

Présentée et soutenue publiquement

Par

Charlotte MABILLE

Le 21 mars 2016

**LE DKK1 ET LA SCLÉROSTINE SERAIENT ILS DES MARQUEURS
PRÉDICTIONNELS DE RECHUTE DU MYÉLOME ?**

Directeur de thèse : Pr Michel LAROCHE

JURY

Monsieur le Professeur Alain CANTAGREL	Président
Monsieur le Professeur Michel LAROCHE	Assesseur
Monsieur le Professeur Arnaud CONSTANTIN	Assesseur
Monsieur le Professeur Michel ATTAL	Assesseur
Madame le Docteur Adeline RUYSSSEN-WITRAND	Suppléant
Madame le Docteur Isabelle GENNERO	Membre Invité



Remerciements

Aux membres du Jury:

A Monsieur le Pr LAROCHE, qui a encadré ce travail et avec qui j'ai pris un grand plaisir à travailler.

A Monsieur le Pr CANTAGREL, pour son enseignement tout au long de mon internat.

A Monsieur le Pr ATTAL qui a accepté d'être membre de mon jury.

A Madame le Dr RUYSSSEN-WITRAND, pour sa disponibilité, ses nombreux conseils dans la réalisation de ce travail, et toutes ses qualités humaines.

A Monsieur le Pr CONSTANTIN, pour son enseignement et l'apprentissage de la rigueur.

A Madame le Dr GENNERO, qui a réalisé tous les prélèvements biologiques de ce travail, soit 1035 dosages!

A ma famille:

A Benjamin, mon futur époux qui rend ma vie si belle au quotidien et dont l'amour et le soutien m'ont aidé dans l'accomplissement de mes études médicales.

A mon «Choupinou», qui grandit si vite, qui remplit de joie notre quotidien depuis un peu plus d'un an, qui a essayé à plusieurs reprises de m'aider dans la rédaction de ma thèse!

A mes parents, qui ont toujours cru en moi, qui m'ont soutenu depuis le début de mes études et qui m'ont apporté tout ce dont j'avais besoin pour réussir. Sans eux, je n'en serai pas là....alors un grand MERCI

A mon frère Romain, pour son soutien et pour son aide sur excel.

A ma future belle sœur Sophie, qui connaît très bien ce type de travail.

Une petite pensée pour mes grands-parents qui auraient aimé être là pour partager ce moment et qui ont toujours été très fières de moi.

A Françoise et Patrick, merci d'avoir parcouru tant de kilomètres pour être présents aujourd'hui.

A mes amis:

A Vio-vio et olive présents depuis Cahors. Et oui, il est loin notre premier semestre!

A Amandine et Will qui ont décidé de partir vivre à la montagne. A quand notre prochaine randonnée. Sans trop de dénivelé tout de même, par pitié!

A Soso, la générosité par excellence, et accessoirement ma « coach » sportive pendant une bonne partie de mon internat, un sacré boulot !

A Marine et Andréi, merci pour ces beaux moments passés à vos côtés !

A tous mes co-internes de Cahors, avec qui j'ai partagé un excellent premier semestre !

A mes collègues:

A tous mes co-internes avec qui j'ai partagé de bons moments et à cette solidarité qui existe entre nous.

Aux CCA pour leur disponibilité, et leurs apprentissages.

Aux PH du service Béné et Laurent merci pour votre enseignement et votre gentillesse.

A Brigitte qui m'a formé à l'électromyographie.

Et aussi:

Aux équipes soignantes et paramédicales de rhumatologie.

A la SFR qui m'a accordé cette bourse pour mener à bien notre projet.

Liste des abréviations

ASCT= Autologous stem cell transplantation
BAFF= B-cell activating factor
CCR1= chemokine C motif receptor 1
CCR5= chemokine C motif receptor 5
CM= composant monoclonal
CR= complete reponse
CTX= Télopeptide C terminal du collagène de type I
DFG= débit de filtration glomérulaire
DLCO= Diffusing Capacity of the Lung for Carbon Monoxide:
DKK1= Dickkopf-related protein 1
EBMT=European Group for Blood and Marrow Transplantation
ECOG= Eastern Cooperative Oncology Group
FEVG= fraction d'éjection du ventricule gauche
Hb= hémoglobine
HGF= hépatocyte growth factor
IFM= Inter groupe Français du myélome
IL3= interleukine trois
IL6= interleukine six
IL7= interleukine sept
LLO= lésion lytique osseuse
MAPK= Mitogen-activated protein kinases
MGUS= monoclonal gammopathy of undetermined significance
MM= myélome multiple
MMP= matrix metalloproteinase
OAF=Ostéoclast Activating Factor
OC= ostéocalcine
OPG= ostéoprotégérine
PAL= phosphatase alcaline
BPAL= phosphatase alcaline osseuse
PTH= parathormone
RANK= receptor activator of nuclear factor kappa-B
RANKL=receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
RVD= revlimid, velcade, dexamethasone
TGO= aspartame aminotransférase
TGP= Alanine Amino Transférase
TNF= tumor necrosis factor
SFRP2= secreted frizzled-related protein 2

TABLEAU du PERSONNEL HU
des Facultés de Médecine de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} septembre 2015

Professeurs Honoraires

Doyen Honoraire	M. ROUGE D.	Professeur Honoraire	M. BARTHE
Doyen Honoraire	M. LAZORTHES Y.	Professeur Honoraire	M. CABARROT
Doyen Honoraire	M. CHAP H.	Professeur Honoraire	M. DUFFAUT
Doyen Honoraire	M. GUIRAUD-CHAUMEIL B.	Professeur Honoraire	M. ESCAT
Doyen Honoraire	M. PUEL P.	Professeur Honoraire	M. ESCANDE
Professeur Honoraire	M. ESCHAPASSE	Professeur Honoraire	M. PRIS
Professeur Honoraire	Mme ENJALBERT	Professeur Honoraire	M. CATHALA
Professeur Honoraire	M. GEDEON	Professeur Honoraire	M. BAZEX
Professeur Honoraire	M. PASQUIE	Professeur Honoraire	M. VIRENQUE
Professeur Honoraire	M. RIBAUT	Professeur Honoraire	M. CARLES
Professeur Honoraire	M. ARLET J.	Professeur Honoraire	M. BONAFÉ
Professeur Honoraire	M. RIBET	Professeur Honoraire	M. VAYSSE
Professeur Honoraire	M. MONROZIES	Professeur Honoraire	M. ESQUERRE
Professeur Honoraire	M. DALOUS	Professeur Honoraire	M. GUITARD
Professeur Honoraire	M. DUPRE	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES F.
Professeur Honoraire	M. FABRE J.	Professeur Honoraire	M. ROQUE-LATRILLE
Professeur Honoraire	M. DUCOS	Professeur Honoraire	M. CERENE
Professeur Honoraire	M. LACOMME	Professeur Honoraire	M. FOURNIAL
Professeur Honoraire	M. COTONAT	Professeur Honoraire	M. HOFF
Professeur Honoraire	M. DAVID	Professeur Honoraire	M. REME
Professeur Honoraire	Mme DIDIER	Professeur Honoraire	M. FAUVEL
Professeur Honoraire	Mme LARENG M.B.	Professeur Honoraire	M. FREXINOS
Professeur Honoraire	M. BES	Professeur Honoraire	M. CARRIERE
Professeur Honoraire	M. BERNADET	Professeur Honoraire	M. MANSAT M.
Professeur Honoraire	M. REGNIER	Professeur Honoraire	M. BARRET
Professeur Honoraire	M. COMBELLES	Professeur Honoraire	M. ROLLAND
Professeur Honoraire	M. REGIS	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT
Professeur Honoraire	M. ARBUS	Professeur Honoraire	M. CAHUZAC
Professeur Honoraire	M. PUJOL	Professeur Honoraire	M. DELSOL
Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI	Professeur Honoraire	M. ABBAL
Professeur Honoraire	M. RUMEAU	Professeur Honoraire	M. DURAND
Professeur Honoraire	M. BESOMBES	Professeur Honoraire	M. DALY-SCHVEITZER
Professeur Honoraire	M. SUC	Professeur Honoraire	M. RAILHAC
Professeur Honoraire	M. VALDIGUIE	Professeur Honoraire	M. POURRAT
Professeur Honoraire	M. BOUNHOURS	Professeur Honoraire	M. QUERLEU D.
Professeur Honoraire	M. CARTON	Professeur Honoraire	M. ARNE JL
Professeur Honoraire	Mme PUEL J.	Professeur Honoraire	M. ESCOURROU J.
Professeur Honoraire	M. GOUZI	Professeur Honoraire	M. FOURTANIER G.
Professeur Honoraire associé	M. DUTAU	Professeur Honoraire	M. LAGARRIGUE J.
Professeur Honoraire	M. PASCAL	Professeur Honoraire	M. PESSEY JJ.
Professeur Honoraire	M. SALVADOR M.	Professeur Honoraire	M. CHAVOIN JP
Professeur Honoraire	M. BAYARD	Professeur Honoraire	M. GERAUD G.
Professeur Honoraire	M. LEOPHONTE	Professeur Honoraire	M. PLANTE P.
Professeur Honoraire	M. FABIE	Professeur Honoraire	M. MAGNAVAL JF

Professeurs Émérites

Professeur ALBAREDE	Professeur JL. ADER
Professeur CONTÉ	Professeur Y. LAZORTHES
Professeur MURAT	Professeur L. LARENG
Professeur MANELFE	Professeur F. JOFFRE
Professeur LOUVET	Professeur B. BONEU
Professeur SARRAMON	Professeur H. DABERNAT
Professeur CARATERO	Professeur M. BOCCALON
Professeur GUIRAUD-CHAUMEIL	Professeur B. MAZIERES
Professeur COSTAGLIOLA	Professeur E. ARLET-SUAU
	Professeur J. SIMON

P.U. - P.H. Classe Exceptionnelle et 1ère classe		P.U. - P.H. 2ème classe	
M. ADOUE Daniel	Médecine Interne, Gériatrie	Mme BEYNE-RAUZY Odile	Médecine Interne
M. AMAR Jacques	Thérapeutique	M. BROUCHET Laurent	Chirurgie thoracique et cardio-vascul
M. ATTAL Michel (C.E)	Hématologie	M. BUREAU Christophe	Hépat-Gastro-Entéro
M. AVET-LOISEAU Hervé	Hématologie, transfusion	M. CALVAS Patrick	Génétique
M. BIRMES Philippe	Psychiatrie	M. CARRERE Nicolas	Chirurgie Générale
M. BLANCHER Antoine	Immunologie (option Biologique)	Mme CASPER Charlotte	Pédiatrie
M. BONNEVILLE Paul	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie.	M. CHAIX Yves	Pédiatrie
M. BOSSAVY Jean-Pierre	Chirurgie Vasculaire	Mme CHARPENTIER Sandrine	Thérapeutique, méd. d'urgence, addict
M. BRASSAT David	Neurologie	M. COGNARD Christophe	Neuroradiologie
M. BROUSSET Pierre (C.E)	Anatomie pathologique	M. DE BOISSEZON Xavier	Médecine Physique et Réadapt Fonct.
M. BUGAT Roland (C.E)	Cancérologie	M. FOURNIE Bernard	Rhumatologie
M. CARRIE Didier	Cardiologie	M. FOURNIÉ Pierre	Ophthalmologie
M. CHAP Hugues (C.E)	Biochimie	M. GAME Xavier	Urologie
M. CHAUVÉAU Dominique	Néphrologie	M. GEERAERTS Thomas	Anesthésiologie et réanimation
M. CHOLLET François (C.E)	Neurologie	Mme GENESTAL Michèle	Réanimation Médicale
M. CLANET Michel (C.E)	Neurologie	M. LAROCHE Michel	Rhumatologie
M. DAHAN Marcel (C.E)	Chirurgie Thoracique et Cardiaque	M. LAUWERS Frédéric	Anatomie
M. DEGUINE Olivier	Oto-rhino-laryngologie	M. LEOBON Bertrand	Chirurgie Thoracique et Cardiaque
M. DUCOMMUN Bernard	Cancérologie	M. MARX Mathieu	Oto-rhino-laryngologie
M. FERRIERES Jean	Epidémiologie, Santé Publique	M. MAS Emmanuel	Pédiatrie
M. FOURCADE Olivier	Anesthésiologie	M. MAZIERES Julien	Pneumologie
M. FRAYSSE Bernard (C.E)	Oto-rhino-laryngologie	M. OLIVOT Jean-Marc	Neurologie
M. IZOPET Jacques (C.E)	Bactériologie-Virologie	M. PARANT Olivier	Gynécologie Obstétrique
Mme LAMANT Laurence	Anatomie Pathologique	M. PARIENTE Jérémie	Neurologie
M. LANG Thierry	Bio-statistique Informatique Médicale	M. PATHAK Atul	Pharmacologie
M. LANGIN Dominique	Nutrition	M. PAYRASTRE Bernard	Hématologie
M. LAUQUE Dominique (C.E)	Médecine Interne	M. PERON Jean-Marie	Hépat-Gastro-Entérologie
M. LIBLAU Roland (C.E)	Immunologie	M. PORTIER Guillaume	Chirurgie Digestive
M. MALAUAUD Bernard	Urologie	M. RONCALLI Jérôme	Cardiologie
M. MANSAT Pierre	Chirurgie Orthopédique	Mme SAVAGNER Frédérique	Biochimie et biologie moléculaire
M. MARCHOU Bruno	Maladies Infectieuses	Mme SELVES Janick	Anatomie et cytologie pathologiques
M. MOLINIER Laurent	Epidémiologie, Santé Publique	M. SOL Jean-Christophe	Neurochirurgie
M. MONROZIES Xavier	Gynécologie Obstétrique		
M. MONTASTRUC Jean-Louis (C.E)	Pharmacologie	P.U.	
M. MOSCOVICI Jacques	Anatomie et Chirurgie Pédiatrique	M. OUSTRIC Stéphane	Médecine Générale
Mme MOYAL Elisabeth	Cancérologie		
Mme NOURHASHEMI Fatemeh	Gériatrie		
M. OLIVES Jean-Pierre (C.E)	Pédiatrie		
M. OSWALD Eric	Bactériologie-Virologie		
M. PARINAUD Jean	Biol. Du Dévelop. et de la Reprod.		
M. PAUL Carle	Dermatologie		
M. PAYOUX Pierre	Biophysique		
M. PERRET Bertrand (C.E)	Biochimie		
M. PRADERE Bernard (C.E)	Chirurgie générale		
M. RASCOL Olivier	Pharmacologie		
M. RECHER Christian	Hématologie		
M. RISCHMANN Pascal (C.E)	Urologie		
M. RIVIERE Daniel (C.E)	Physiologie		
M. SALES DE GAUZY Jérôme	Chirurgie Infantile		
M. SALLES Jean-Pierre	Pédiatrie		
M. SANS Nicolas	Radiologie		
M. SERRE Guy (C.E)	Biologie Cellulaire		
M. TELMON Norbert	Médecine Légale		
M. VINEL Jean-Pierre (C.E)	Hépat-Gastro-Entérologie		

P.U. - P.H. Classe Exceptionnelle et 1ère classe		P.U. - P.H. 2ème classe	
M. ACAR Philippe	Pédiatrie	M. ACCADBLE Franck	Chirurgie Infantile
M. ALRIC Laurent	Médecine Interne	M. ARBUS Christophe	Psychiatrie
Mme ANDRIEU Sandrine	Epidémiologie	M. BERRY Antoine	Parasitologie
M. ARLET Philippe (C.E)	Médecine Interne	M. BONNEVILLE Fabrice	Radiologie
M. ARNAL Jean-François	Physiologie	M. BOUNES Vincent	Médecine d'urgence
Mme BERRY Isabelle (C.E)	Biophysique	Mme BURA-RIVIERE Alessandra	Médecine Vasculaire
M. BOUTAULT Franck (C.E)	Chirurgie Maxillo-Faciale et Stomatologie	M. CHAUFOUR Xavier	Chirurgie Vasculaire
M. BUJAN Louis	Urologie-Andrologie	M. CHAYNES Patrick	Anatomie
M. BUSCAIL Louis	Hépatogastro-Entérologie	M. DAMBRIN Camille	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
M. CANTAGREL Alain (C.E)	Rhumatologie	M. DECRAMER Stéphane	Pédiatrie
M. CARON Philippe (C.E)	Endocrinologie	M. DELOBEL Pierre	Maladies Infectieuses
M. CHAMONTIN Bernard (C.E)	Thérapeutique	M. DELORD Jean-Pierre	Cancérologie
M. CHIRON Philippe (C.E)	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie	Mme DULY-BOUHANICK Béatrice	Thérapeutique
M. CONSTANTIN Arnaud	Rhumatologie	M. FRANCHITTO Nicolas	Toxicologie
M. COURBON Frédéric	Biophysique	M. GALINIER Philippe	Chirurgie Infantile
Mme COURTADE SAIDI Monique	Histologie Embryologie	M. GARRIDO-STÓWHAS Ignacio	Chirurgie Plastique
M. DELABESSE Eric	Hématologie	Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel	Anatomie Pathologique
Mme DELISLE Marie-Bernadette (C.E)	Anatomie Pathologique	M. HUYGHE Eric	Urologie
M. DIDIER Alain (C.E)	Pneumologie	M. LAFFOSSE Jean-Michel	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
M. ELBAZ Meyer	Cardiologie	M. LEGUEVAQUE Pierre	Chirurgie Générale et Gynécologique
M. GALINIER Michel	Cardiologie	M. MARCHEIX Bertrand	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
M. GLOCK Yves	Chirurgie Cardio-Vasculaire	Mme MAZEREUW Juliette	Dermatologie
M. GOURDY Pierre	Endocrinologie	M. MEYER Nicolas	Dermatologie
M. GRAND Alain (C.E)	Epidémiologie. Eco. de la Santé et Prévention	M. MINVILLE Vincent	Anesthésiologie Réanimation
M. GROLLEAU RAOUX Jean-Louis	Chirurgie plastique	M. MUSCARI Fabrice	Chirurgie Digestive
Mme GUIMBAUD Rosine	Cancérologie	M. OTAL Philippe	Radiologie
Mme HANAIRE Hélène (C.E)	Endocrinologie	M. ROUX Franck-Emmanuel	Neurochirurgie
M. KAMAR Nassim	Néphrologie	M. SAILLER Laurent	Médecine Interne
M. LARRUE Vincent	Neurologie	M. TACK Ivan	Physiologie
M. LAURENT Guy (C.E)	Hématologie	Mme URO-COSTE Emmanuelle	Anatomie Pathologique
M. LEVADE Thierry (C.E)	Biochimie	M. VERGEZ Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
M. MALECAZE François (C.E)	Ophthalmologie		
M. MARQUE Philippe	Médecine Physique et Réadaptation		
Mme MARTY Nicole	Bactériologie Virologie Hygiène		
M. MASSIP Patrice (C.E)	Maladies Infectieuses		
M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E)	Psychiatrie Infantile		
M. RITZ Patrick	Nutrition		
M. ROCHE Henri (C.E)	Cancérologie		
M. ROLLAND Yves	Gériatrie		
M. ROSTAING Lionel (C.E).	Néphrologie		
M. ROUGE Daniel (C.E)	Médecine Légale		
M. ROUSSEAU Hervé (C.E)	Radiologie		
M. SALVAYRE Robert (C.E)	Biochimie		
M. SCHMITT Laurent (C.E)	Psychiatrie		
M. SENARD Jean-Michel	Pharmacologie		
M. SERRANO Elie (C.E)	Oto-rhino-laryngologie		
M. SOULAT Jean-Marc	Médecine du Travail		
M. SOULIE Michel (C.E)	Urologie		
M. SUC Bertrand	Chirurgie Digestive		
Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E)	Pédiatrie		
M. VAYSSIERE Christophe	Gynécologie Obstétrique		
M. VELLAS Bruno (C.E)	Gériatrie		

Professeur Associé de Médecine Générale
Pr VIDAL Marc
Pr STILLMUNKES André
Professeur Associé en O.R.L
Pr WOISARD Virginie

M.C.U. - P.H.		M.C.U. - P.H	
M. APOIL Pol Andre	Immunologie	Mme ABRAVANEL Florence	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme ARNAUD Catherine	Epidémiologie	M. BES Jean-Claude	Histologie - Embryologie
M. BIETH Eric	Génétique	M. CMBUS Jean-Pierre	Hématologie
Mme BONGARD Vanina	Epidémiologie	Mme CANTERO Anne-Valérie	Biochimie
Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie	Nutrition	Mme CARFAGNA Luana	Pédiatrie
Mme CASSAING Sophie	Parasitologie	Mme CASSOL Emmanuelle	Biophysique
Mme CONCINA Dominique	Anesthésie-Réanimation	Mme CAUSSE Elisabeth	Biochimie
M. CONGY Nicolas	Immunologie	M. CHAPUT Benoit	Chirurgie plastique et des brûlés
Mme COURBON Christine	Pharmacologie	M. CHASSAING Nicolas	Génétique
Mme DAMASE Christine	Pharmacologie	Mme CLAVE Danielle	Bactériologie Virologie
Mme de GLISEZENSKY Isabelle	Physiologie	M. CLAVEL Cyril	Biologie Cellulaire
Mme DE MAS Véronique	Hématologie	Mme COLLIN Laetitia	Cytologie
Mme DELMAS Catherine	Bactériologie Virologie Hygiène	M. CORRE Jill	Hématologie
M. DUBOIS Damien	Bactériologie Virologie Hygiène	M. DEDOUIT Fabrice	Médecine Légale
Mme DUGUET Anne-Marie	Médecine Légale	M. DELPLA Pierre-André	Médecine Légale
M. DUPUI Philippe	Physiologie	M. DESPAS Fabien	Pharmacologie
M. FAGUER Stanislas	Néphrologie	M. EDOUARD Thomas	Pédiatrie
Mme FILLAUX Judith	Parasitologie	Mme ESQUIROL Yolande	Médecine du travail
M. GANTET Pierre	Biophysique	Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytologie
Mme GENNERO Isabelle	Biochimie	Mme GALINIER Anne	Nutrition
Mme GENOUX Annelise	Biochimie et biologie moléculaire	Mme GARDETTE Virginie	Epidémiologie
M. HAMDJ Safouane	Biochimie	M. GASQ David	Physiologie
Mme HITZEL Anne	Biophysique	Mme GRARE Marion	Bactériologie Virologie Hygiène
M. IRIART Xavier	Parasitologie et mycologie	Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline	Anatomie Pathologique
M. JALBERT Florian	Stomatologie et Maxillo-Faciale	Mme GUYONNET Sophie	Nutrition
Mme JONCA Nathalie	Biologie cellulaire	M. HERIN Fabrice	Médecine et santé au travail
M. KIRZIN Sylvain	Chirurgie générale	Mme INGUENEAU Cécile	Biochimie
Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse	Pharmacologie	M. LAHARRAGUE Patrick	Hématologie
M. LAURENT Camille	Anatomie Pathologique	M. LAIREZ Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
Mme LE TINNIER Anne	Médecine du Travail	Mme LAPRIE Anne	Cancérologie
M. LHERMUSIER Thibault	Cardiologie	M. LEANDRI Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
M. LOPEZ Raphael	Anatomie	Mme LEOBON Céline	Cytologie et histologie
Mme MONTASTIER Emilie	Nutrition	M. LEPAGE Benoit	Bio-statistique
M. MONTOYA Richard	Physiologie	Mme MAUPAS Françoise	Biochimie
Mme MOREAU Marion	Physiologie	M. MIEUSSET Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
Mme NOGUEIRA M.L.	Biologie Cellulaire	Mme NASR Nathalie	Neurologie
M. PILLARD Fabien	Physiologie	Mme PERIQUET Brigitte	Nutrition
Mme PRERE Marie-Françoise	Bactériologie Virologie	Mme PRADDAUDE Françoise	Physiologie
Mme PUISSANT Bénédicte	Immunologie	M. RIMAILHO Jacques	Anatomie et Chirurgie Générale
Mme RAGAB Janie	Biochimie	M. RONGIERES Michel	Anatomie - Chirurgie orthopédique
Mme RAYMOND Stéphanie	Bactériologie Virologie Hygiène	Mme SOMMET Agnès	Pharmacologie
Mme SABOURDY Frédérique	Biochimie	M. TKACZUK Jean	Immunologie
Mme SAUNE Karine	Bactériologie Virologie	Mme VALLET Marion	Physiologie
M. SILVA SIFONTES Stein	Réanimation	Mme VEZZOSI Delphine	Endocrinologie
M. SOLER Vincent	Ophthalmologie		
M. TAFANI Jean-André	Biophysique		
M. TREINER Emmanuel	Immunologie		
Mme TREMOLLIERES Florence	Biologie du développement		
M. TRICOIRE Jean-Louis	Anatomie et Chirurgie Orthopédique		
M. VINCENT Christian	Biologie Cellulaire		
			M.C.U.
		M. BISMUTH Serge	Médecine Générale
		Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve	Médecine Générale
		Mme ESCOURROU Brigitte	Médecine Générale

Maîtres de Conférences Associés de Médecine Générale

Dr BRILLAC Thierry
Dr ABITTEBOUL Yves
Dr CHICOULAA Bruno
Dr IRI-DELAHAYE Motoko

Dr BISMUTH Michel
Dr BOYER Pierre
Dr ANE Serge

Table des matières

I Introduction:.....	10
II Revue de la littérature:	10
1. Remodelage osseux normal:	10
a) Voies de régulation de la résorption ostéoclastique:.....	10
b) Voies de régulation de la formation ostéoblastique:	11
2. Remodelage osseux dans le myélome :.....	11
a) Facteurs à l'origine de l'hyper résorption ostéoclastique :	12
b) Facteurs inhibant les ostéoblastes :	13
3. Étude des cytokines et du remodelage osseux après traitement dans le MM:	15
a) DKK1/ sclérostine:.....	15
b) PAL P1NP:	17
III Méthodes:.....	19
1. Design:.....	19
2. Patients:.....	19
a) Description du protocole IFM 2009:	19
b) Sélection des patients pour cette étude ancillaire:.....	22
3. Techniques de dosage:	22
4. Analyses statistiques:	24
IV Résultats:	25
1. Description de la population:	25
2. Analyse du DKK1 et de la sclérostine aux trois temps:.....	26
3. Objectifs secondaires:	28
a) Analyse du P1NP aux trois temps:.....	28
b) Recherche de corrélations entre les bio-marqueurs:.....	28
c) Recherche d'associations entre la variation entre T1 et T3 du taux de DKK1, de sclérostine, de P1NP et les caractéristiques du MM:	29
d) Recherche d'associations entre la variation entre T1 et T3 du taux de DKK1, de la sclérostine, de P1NP et les traitements reçus:.....	29

e) Evaluation de la précocité de l'augmentation des taux du DKK1 ou de la sclérostine avant la rechute, comparée au composant monoclonal:	31
V Discussion:.....	32
VI Conclusion:	34
VIII Annexes	38
Annexe 1:	38
Annexe 2:	39
Annexe 3 :	40
Annexe 4:.....	40
IX Abstract:	41

I Introduction:

Le MM est une maladie hématologique dont la sévérité fonctionnelle est corrélée aux atteintes osseuses secondaires à un déséquilibre de la balance ostéoclastes/ostéoblastes.

Rétablir l'équilibre entre la formation et la résorption osseuse est donc primordiale dans la prise en charge de cette hémopathie. Les marqueurs biologiques du remodelage osseux permettent d'évaluer précisément par leur dosage sérique les fonctions ostéoblastiques et ostéoclastiques. L'hyper résorption osseuse est connue depuis les années 1990 avec la découverte des OAF par Gregor Mundy. L'inhibition de la formation ostéoblastique est beaucoup moins connue, et joue un rôle probablement aussi important.

Après réponse thérapeutique, les marqueurs de la résorption ostéoclastique diminuent et se normalisent (NTX, TRACP-5b). L'hypo formation persiste (stabilité dans les valeurs basses des marqueurs biologiques de la formation osseuse) malgré la disparition des plasmocytes tumoraux après chimiothérapie chez des malades en réponse complète (1).

La mise en évidence récente de la voie Wnt dans l'activation ostéoblastique et de deux de ses inhibiteurs (DKK1 et sclérostine) pourrait permettre de mieux comprendre le mécanisme d'apparition et d'évolution des lésions osseuses du MM.

II Revue de la littérature:

1. Remodelage osseux normal:

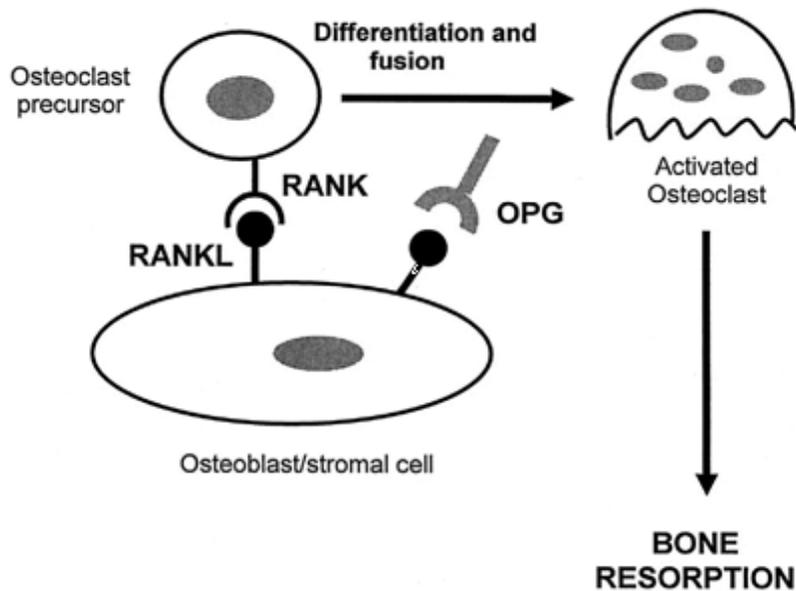
Il existe trois types de cellules qui régulent le remodelage osseux: les ostéocytes (ostéoblastes emmurés dans la matrice osseuse minéralisée) qui détectent les micro-lésions et initient le processus du remodelage, les ostéoclastes qui dérivent des cellules mononuclées et sont responsables de la résorption de l'os et les ostéoblastes qui dérivent des précurseurs mésenchymateux de la moelle osseuse et permettent la formation osseuse. Le cycle normal du remodelage osseux est initié par les ostéocytes qui sont sensibles aux contraintes mécaniques exercées sur la trame osseuse. La survenue de micro-lésions engendre des modifications des contraintes mécaniques exercées sur les ostéocytes générant un signal d'activation de la résorption osseuse. Durant cette phase de résorption, les cellules mononuclées, précurseurs des ostéoclastes, se différencient pour fusionner en ostéoclastes matures qui vont alors creuser une lacune de résorption. Après cette phase de résorption, les pré-ostéoblastes, sous l'influence de facteurs de croissance sécrétés localement, se différencient en ostéoblastes pour synthétiser une nouvelle matrice osseuse, appelée ostéoïde, qui se minéralisera ensuite pour devenir de l'os. Le remodelage osseux permet donc le maintien de l'intégrité du tissu osseux en associant un processus de résorption osseuse par les ostéoclastes et de formation par les ostéoblastes (2).

a) Voies de régulation de la résorption ostéoclastique:

RANKL en se fixant à RANK stimule l'ostéoclastogénèse et la résorption osseuse. RANKL est une cytokine de la famille du TNF qui, dans le tissu osseux, est exprimée à la surface des ostéoblastes. Il interagit avec son récepteur membranaire RANK exprimé à la surface des ostéoclastes et leurs précurseurs.

L'OPG est sécrétée par les ostéoblastes, elle se fixe à RANKL et bloque l'interaction entre RANKL et RANK. Au cours du remodelage osseux, l'association RANK/ RANKL va stimuler la

différenciation et l'activité des ostéoclastes. La résorption osseuse qui résulte de l'activation des ostéoclastes va être inhibée par l'OPG (3).



b) Voies de régulation de la formation ostéoblastique:

Il existe deux voies principales de signalisation qui permettent l'activation de la différenciation des ostéoblastes:

-La voie Wnt:

Le Wnt est un ensemble moléculaire complexe. Il se fixe sur un récepteur membranaire appelé frizzled protein. L'interaction entre le Wnt et la frizzled protein active la bêta-caténine, dont l'expression marque l'entrée dans la voie ostéoblastique. La beta caténine augmente l'expression de gènes impliqués dans la différenciation des ostéoblastes, elle code pour l'expression de l'OPG (4). Le DKK1 sécrété par les cellules mésenchymateuses et la sclérostine sécrétée par les ostéocytes sont des inhibiteurs physiologiques de la voie de la Wnt protein, principale voie de stimulation de la fonction ostéoblastique.

-La voie du Runx2:

Le Runx2 est un facteur de transcription. Il permet la formation osseuse en activant la différenciation des ostéoblastes (5). De plus, Runx2 diminuerait l'ostéoclastogénèse en augmentant l'ostéoprotégérine (3).

2. Remodelage osseux dans le myélome :

Les lésions osseuses lytiques du myélome multiple sont liées à une hyper résorption ostéoclastique et à une diminution de la formation osseuse ostéoblastique (6).

a) Facteurs à l'origine de l'hyper résorption ostéoclastique :

L'hyper résorption osseuse peut-être évaluée biologiquement essentiellement par le CTX, molécule de pontage du collagène osseux.

L'augmentation du nombre et de l'activité des ostéoclastes est à l'origine des lésions lytiques osseuses. Les cellules myélomateuses permettent la différenciation des ostéoclastes.

-RANK/RANKL (famille TNF)

RANKL est exprimé par les précurseurs des ostéoclastes, il permet la formation, la différenciation et la survie des ostéoclastes. L'expression de RANKL est augmentée dans le myélome multiple. En effet, les plasmocytes tumoraux qui envahissent la moelle osseuse induisent l'expression de RANKL par contact direct ou en interagissant avec les cellules stromales. Le taux de RANKL est impliqué dans la formation des lésions lytiques osseuses. L'OPG, antagoniste de RANKL est sécrétée par les ostéoblastes et les cellules stromales. L'expression de l'OPG est diminuée dans le myélome. En effet, les cellules myélomateuses diminuent la sécrétion de l'OPG par les ostéoblastes. La balance RANKL/OPG est primordiale dans le remodelage osseux. Une diminution de l'OPG et une augmentation de RANKL est à l'origine d'une hyper-résorption osseuse. L'augmentation du ratio RANKL/OPG a été identifiée comme un facteur de mauvais pronostic dans le myélome multiple. Il existe aussi une modification du ratio RANKL/OPG chez des patients ayant un MGUS mais de façon moins importante (7,8).

- CCL3/MIP1a et MIP1b

MIP1a et MIP1b sont toutes les deux secrétées par des cellules myélomateuses, elles augmentent l'expression de RANKL par l'intermédiaire des cellules stromales. MIP1a est une cytokine pro inflammatoire, ces récepteurs sont le CCR1 et le CCR5 (9). Elle permet la différenciation des osteoclastes et leur formation en augmentant l'effet de RANKL et de l'IL6. La liaison ligand/récepteur active deux voies de signalisation: la voie AKT et la voie des MAPK. L'activation du récepteur CCR1 favorise la croissance et la survie des cellules myélomateuses, améliore la capacité de migration et induit la formation de lésions lytiques osseuses par l'intermédiaire de RANKL. Le MIP1a est augmenté dans la moelle osseuse des patients ayant un MM, il n'est pas élevé chez des patients ayant un MGUS. Dans le sang, MIP1a est élevé de façon plus importante chez des patients ayant un MM avec des atteintes osseuses. Il existe une corrélation entre MIP1a et la destruction osseuse. A l'inverse l'antagoniste de CCR1= CCX721 bloque la formation des ostéoclastes et donc diminue l'ostéolyse et la croissance tumorale. Cependant pour observer cet effet il faut de forte dose de CCX721 (10).

-l'IL6 augmente la prolifération des cellules myélomateuses en prolongeant leur survie, par un processus d'inhibition de l'apoptose. Elle augmente aussi le nombre d'ostéoclastes matures et leurs activités. L'IL6 est plus élevée chez les patients ayant des lésions lytiques osseuses que chez les patients ayant un MM sans atteinte osseuse (7).

D'autres facteurs ont été identifiés comme étant à l'origine d'une hyper-résorption osseuse dans le MM.

-HGF: qui a un rôle dans l'activation des ostéoclastes et l'angiogenèse (7)

-BAFF: qui favorise la prolifération des cellules tumorales en les protégeant de l'apoptose (5,6).

-TNFa: qui augmente la production d'IL6 (6,11).

-VEGF: qui en se liant au VEGFR1 joue un rôle dans la survie des ostéoclastes, améliore leur fonction et active l'IL6 (7).

-Osteopontine: est augmentée chez des patients ayant un MM par rapport aux patients sains ou ayant un MGUS. Elle diminue après la chimiothérapie et permet la migration et la liaison des ostéoclastes à la matrice minérale osseuse (7,12).

-SDF1: est corrélé aux LLO. Son récepteur est le CXCR4. Le SDF1 augmente l'expression des MMP 9. Ces dernières augmentent le recrutement, la migration et l'activation des ostéoclastes (7,8).

-PTHrp: est augmenté chez des patients ayant un MM. Il stimule la résorption osseuse en augmentant l'expression de RANKL(7).

b) Facteurs inhibant les ostéoblastes :

La formation ostéoblastique est évaluée biologiquement par le dosage des PAL osseuse, de l'ostéocalcine et du P1NP

- DKK1 :

Dans différentes études, il a été démontré que l'expression du DKK1 était augmentée chez les patients ayant un myélome multiple par rapport aux patients ayant une MGUS (5,11,12). La concentration de DKK-1 chez les patients ayant un MM est plus élevée que chez les patients ayant une MGUS (46 ng/mL (20–240 ng/mL) soit 1794 pmol/l versus 38 ng/mL (22–74 ng/mL) soit 1482 pmol/l ;p=0.006) qui est plus élevée que chez les patients contrôles (33 ng/mL soit 1232 pmol/l (11–46 ng/mL; p=0.02) (13).

Il existe une corrélation entre le taux de DKK1 et la sévérité du myélome multiple déterminée par la classification de Salmon et Durie (12–15). Le DKK1 est corrélé aux atteintes osseuses. Il est plus bas chez les patients n'ayant pas de lésion ostéolytique (11,13–15).

En présence d'un anti DKK1, on note une augmentation du nombre et de l'activité des ostéoblastes, une augmentation de la minéralisation osseuse et une diminution du nombre de lésions ostéolytiques.

Actions du DKK1 :

-il inhibe la formation osseuse en diminuant l'activation de la voie de signalisation Wnt et donc le nombre d'ostéoblaste. Le DKK1 altère la minéralisation osseuse (15).

-il diminue la production d'ostéoprotégérine, et donc favorise la résorption osseuse (modification du ratio RANKL/OPG).

-Il augmente l'expression de l'IL6 par les cellules mésenchymateuses (4).

-Il favorise la survie et croissance du composant monoclonal (4).

- Sclérostine :

La sclérostine est sécrétée par les ostéocytes. Le taux de sclérostine dans la moelle osseuse est plus élevé chez les patients ayant un myélome multiple que chez les patients ayant une MGUS. Brunetti et al, ont comparé les taux de sclérostine chez des patients ayant une MGUS, à des patients ayant un myélome multiple sans et avec un événement osseux (fracture, lésion lytique) (16). Dans la moelle osseuse, la sclérostine était basse chez les patients ayant une MGUS et plus élevée chez les patients ayant un myélome multiple compliqué d'un événement osseux que chez les MM sans atteinte osseuse. Dans le sérum il n'y a pas de différence sur le taux de sclérostine entre les patients ayant une MGUS et les patients ayant un myélome multiple. Un taux de sclérostine élevé est mis en évidence suite à l'apparition d'un événement osseux d'origine myélomateux et lors d'une rechute du myélome. Le taux de sclérostine est corrélé à une survie moins importante, au stade de la maladie et à une perte osseuse (corrélation négative forte avec les PAL) (7, 16, 17).

Actions de la sclérostine :

- Elle diminue la formation osseuse (inhibe la différenciation des pré-ostéoblastes) via le WNT.
- Elle active les ostéoclastes en diminuant l'OPG.

-L'Activin A augmente l'activation des ostéoclastes et diminue la différenciation des ostéoblastes. Elle est augmentée chez les patients atteints de myélome multiple. L'anti Activin A diminue le nombre de cellules myélomateuses donc le volume tumoral et augmente la formation osseuse et la minéralisation osseuse (11,18). L'étude de Chantry et al montre qu'il y a aucune activité sur les ostéoclastes in vitro (hypothèse: délai trop court, analyse faite à 12 semaines) (19).

-Le SFRP2 est augmenté chez les patients ayant un myélome multiple. Il inhibe la voie du Wnt et donc diminue la différenciation des ostéoblastes (11). De plus, il pourrait être impliqué dans l'apparition de lésions lytiques osseuses(5).

D'autres molécules sont impliquées dans l'inhibition de la différenciation des ostéoblastes:

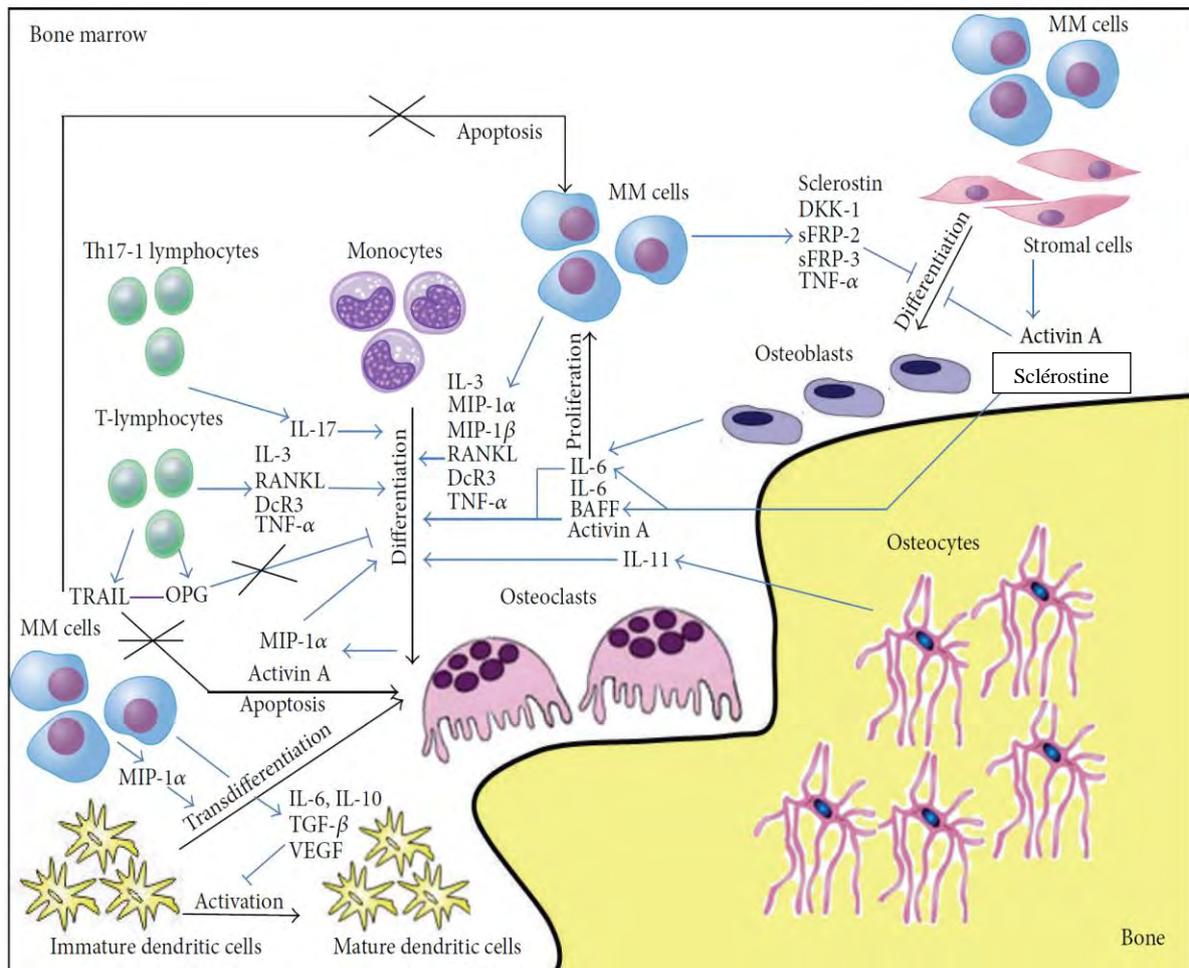
-L'IL3 est augmentée dans la moelle osseuse des patients ayant un myélome multiple. Elle inhibe la différenciation des ostéoblastes par l'intermédiaire des cellules CD45+ (11).

-L'IL7 est augmentée dans la moelle osseuse des patients ayant un myélome multiple. Elle inhibe la différenciation des ostéoblastes en bloquant l'activité de RUNX2 (4).

-Le TNF α augmente l'apoptose des ostéoblastes par l'intermédiaire de RUNX2 et augmente la prolifération tumorale en diminuant l'apoptose (11).

-Le HGF est augmenté dans la moelle osseuse des patients ayant un myélome, il constitue un facteur de mauvais pronostic. Il diminue l'expression de Runx2 et donc la différenciation des ostéoblastes (5).

Schéma récapitulatif:



3. Étude des cytokines et du remodelage osseux après traitement dans le MM:

a) DKK1/ sclérostine:

L'étude de Laroche et al, visait à évaluer les variations des taux de DKK1 chez 24 patients non traités par bisphosphonate au cours du traitement du myélome. Le taux de DKK1 était élevé chez ces patients au moment du diagnostic de myélome et diminuait de façon significative après la chimiothérapie chez les patients très bons répondeurs aux traitements (diminution de 90% du pic monoclonale) (20). (cf tableau 1).

Tableau 1 Etude de Laroche et al: Concentration DKK1 et composant monoclonale 6 et 12 mois après la greffe.

Table 1 Serum DKK1 and M protein concentrations before, 6 and 12 months after ASCT

	Before ASCT	6 months after ASCT	12 months after ASCT
DKK1 all patients (pg/mL)	769 ± 245	547 ± 103 (P = 0.03)	3178 ± 1841 (P = 0.2)
DKK1 good responders	642 ± 513	303 ± 213 (P = 0.009)	
DKK1 bad responders	957 ± 954	662 ± 740 (P = 0.2)	
DKK1 late relapse	589 ± 272		325 ± 237 (P = 0.18)
DKK1 rapid relapse	682 ± 513		5318 ± 10.8500 (P = 0.02)
M protein good responders (g/L)	9.8 ± 10	2.8 ± 4.2	
M protein bad responders.	12.5 ± 8	16 ± 10.5 (P = 0.03)	
M protein late relapse	11 ± 9.7		5.7 ± 9.6
M Protein rapid relapse	12.8 ± 10.2		9.2 ± 7.7 (P = 0.12)

Dans l'étude de Lemaire O et al, le DKK1 était dosé chez 39 patients au moment de la greffe, 6 mois après la greffe et 12 mois après la greffe. Il existait une diminution significative du DKK1 chez les bons répondeurs (diminution >75% du pic monoclonal) à 6 mois (25+/-20 versus 11,8+/- 8,3 pmol/l p =0,009), alors qu'il n'y avait pas de variation du DKK1 chez les mauvais répondeurs (p=0,17). Aucune corrélation n'avait été mise en évidence entre le DKK1 et le composant monoclonal. Chez les patients en rechute rapide (reprise du traitement <18 mois après la greffe), le taux de DKK1 augmentait de façon significative à 12 mois (p=0,028). Chez les patients qui avaient eu une rechute tardive (reprise du traitement >18 mois après la greffe) le taux de DKK1 diminuait, mais de façon non significative lorsqu'on comparait le taux à 12 mois après la greffe au taux pré-greffe. Il n'y avait pas de variation significative de la protéine monoclonale dans les groupes rechute rapide ou tardive entre les temps 12 mois après la greffe et avant la greffe. Le taux de DKK1 était plus informatif 12 mois après la greffe et donc plus prédictif de la rechute (21).

Heider et al (étude concernant des patients atteints de MM et des patients ayant une MGUS), montraient aussi que le DKK1 diminuait de façon significative à 3 mois (p<0,001) chez les patients répondeurs complets ou partiels (70/110) alors qu'il n'était pas modifié chez les non répondeurs (31/101). Ils comparaient le taux de DKK1 avant tout traitement. Celui-ci n'était pas prédictif d'une bonne ou mauvaise réponse thérapeutique. Il n'y avait pas non plus de différence sur le taux de DKK1 en pré thérapeutique entre les patients en première ligne de chimiothérapie versus ceux en deuxième, troisième ou quatrième lignes de traitement (22).

Politou et al montraient que le DKK1 diminuait après traitement par Melphalan haute dose puis greffe chez les 32 patients ayant un MM. Dans cette étude, le taux n'était pas comparé en fonction de la bonne ou mauvaise réponse thérapeutique (13).

En conclusion, après traitement par chimiothérapie, le DKK1 diminue chez les bons répondeurs et ne varie pas chez les patients en échec thérapeutique (7,20–24) Cependant ces études ont été réalisées sur un faible nombre de patients ce qui demande d'être confirmées dans une population plus importante.

L'étude de Laroche et al, a montré une augmentation du DKK1 chez les patients qui rechutent de façon rapide à 12 mois sans variation de la protéine monoclonale (20). Ce qui suggère une variation plus précoce de DKK1 que du composant monoclonal lors de la rechute.

b) PAL P1NP:

L'étude de Laroche M et al visait à évaluer les variations des marqueurs du remodelage osseux sur 39 malades après un traitement par chimiothérapie et auto-greffe (Vincristine, Adriamycine et Dexaméthasone pour 27 patients, Bortezomib et Dexaméthasone pour 8 patients, Thalidomide et Dexaméthasone pour 4 patients). Il a été réalisé des dosages des différents marqueurs du remodelage osseux au moment du diagnostic de myélome (T1), juste avant la greffe (T2), 6 mois après la greffe (T3) et un an après la greffe (T4).

Les CTX étaient augmentés au moment du diagnostic par rapport à une population équivalente et diminuaient suite à la greffe, traduisant une diminution de la destruction osseuse par les ostéoclastes. Les PAL étaient plus basses que dans une population contrôle au moment du diagnostic, elles n'augmentaient pas de façon significative entre T1 et T4, elles restaient stables même chez des patients en très bonne réponse (20).

Dans l'étude de Politou et al, après l'ASCT, les marqueurs de la résorption osseuse (NTX et TRACP-5b) se normalisaient trois mois après la fin du traitement. Les marqueurs de la formation osseuse (ostéocalcine, PAL) augmentaient mais pas de façon statistiquement significative.

Après la greffe, il y avait une diminution des marqueurs de la résorption osseuse et une augmentation des marqueurs de la formation osseuse. Donc possiblement une normalisation de la fonction des ostéoblastes (13).

Terpos et al 2006, observaient une diminution des marqueurs de la résorption osseuse après traitement par Bortezomib (CTX, TRACP5b) et une augmentation des marqueurs de la formation osseuse (PAL, OC) (24).

Cependant, plusieurs études montraient que le Bortezomib augmenterait l'activité des ostéoblastes se traduisant par une augmentation du P1NP (25), des PAL (26). Ce traitement serait de plus à l'origine d'une diminution de l'évolution des atteintes osseuses (23). Dans l'étude de Delforge et al, le DKK1 était plus faible chez les patients traités par VMP que chez les patients traités par MP seul. (cf tableau 2)

Tableau 2: Valeurs médianes des marqueurs du remodelage osseux et du DKK1 après un traitement par Bortezomib.

Table 4 Median values of markers of bone metabolism and angiogenic cytokines at baseline, after four cycles of VMDT and at the end of the study

Parameter	MM at baseline (n=62); median (range)	Controls (n=42) ^a ; median (range)	P-value (patients vs controls)	MM at 4th month (n=59); median (range)	P-value (baseline vs 4th cycle)	MM at study end (n=48); median (range)	P-value (base vs end)	P-value (4th cycle vs end)
<i>Osteoclast regulators</i>								
sRANKL (pmol/l)	0.49 (ND-1.58)	0.08 (ND-2.32)	<0.0001	0.26 (ND-1.06)	<0.0001	0.30 (ND-1.17)	<0.001	0.139
OPG (pmol/l)	4.62 (1.07-9.73)	4.49 (1.76-13.0)	0.328	4.18 (1.88-23.5)	0.153	5.33 (2.16-16.8)	0.109	0.498
sRANKL/OPG	0.117 (ND-0.69)	0.008 (ND-0.47)	<0.0001	0.057 (ND-0.24)	<0.0001	0.071 (ND-0.21)	<0.001	0.071
MIP-1 α (pg/ml)	40.2 (ND-467.8)	0.7 (ND-95.5)	<0.001	2.06 (ND-198.7)	<0.001	3.18 (ND-100.7)	<0.001	0.316
OPN (ng/ml)	46.4 (2.22-440.8)	26.2 (14.5-147.3)	0.001	32.1 (ND-154.1)	<0.01	13.3 (ND-100.6)	<0.0001	<0.01
<i>Markers of bone resorption</i>								
CTX (ng/ml)	0.52 (ND-1.87)	0.26 (ND-0.84)	<0.0001	0.28 (ND-1.56)	<0.0001	0.30 (ND-1.64)	<0.001	0.336
TRACP-5b (U/l)	2.13 (0.53-6.22)	1.30 (0.03-3.36)	<0.0001	1.82 (0.64-5.44)	0.014	1.74 (0.44-4.87)	0.001	0.142
<i>Osteoblast inhibitors</i>								
Dkk-1 (ng/ml)	90.8 (26.9-990.0)	33.4 (11.2-54.2)	<0.0001	58.9 (13.2-346.7)	0.022	65.4 (19.1-261.2)	0.024	0.47
<i>Markers of bone formation</i>								
bALP (U/l)	17.1 (4.35-46.0)	27.3 (11.7-45.8)	<0.0001	15.4 (4.16-51.9)	0.177	15.3 (3.19-61.5)	0.074	0.308
OC (ng/ml)	7.12 (ND-34.2)	17.7 (4.32-45.6)	<0.0001	8.6 (ND-43.5)	0.06	8.33 (ND-49.6)	0.094	0.485
CICP (ng/ml)	24.1 (ND-273.6)	37.9 (ND-124.0)	0.039	32.8 (ND-157.5)	0.03	39.3 (2.08-112.7)	0.01	0.105
<i>Angiogenic cytokines</i>								
VEGF (pg/ml)	168.2 (8.9-1109)	97.2 (ND-648.1)	<0.01	146.2 (ND-1500)	0.049	123 (22.8-702.3)	0.042	0.104
Angiogenin (ng/ml)	339 (123.9-1318)	221 (86.1-359.2)	<0.0001	321 (131.2-862)	0.234	289 (115.2-1136)	0.036	0.488
Angiopoietin-2 (ng/ml)	3.23 (0.07-65.6)	1.44 (ND-6.05)	<0.01	2.37 (0.11-9.57)	0.01	2.77 (0.07-7.99)	0.018	0.409
bFGF (pg/ml)	0.35 (ND-55.0)	0 (ND-34.5)	<0.01	0 (ND-163.2)	0.02	0 (ND-278.7)	0.041	0.214

Abbreviations: bALP, bone-specific alkaline phosphatase; bFGF, basic fibroblast growth factor; CICP, C-propeptide of collagen type-I; CTX, C-telopeptide of collagen type-I; Dkk-1, dickkopf-1; MIP-1 α , macrophage inflammatory protein-1 α ; MM, multiple myeloma; ND, nondetectable; OC, osteocalcin; OPN, osteopontin; OPG, osteoprotegerin; sRANKL, soluble receptor activator of nuclear factor- κ B ligand; TRACP-5b, tartrate-resistant acid phosphatase isoform-5b; VEGF, vascular endothelial growth factor.

^an=22 (13 M/9 F, median age 66 years) for Dkk-1 measurement.

En conclusion, les marqueurs de la résorption osseuse (TRACP-5b, CTX) diminuent lorsque la chimiothérapie est efficace (13,24). En ce qui concerne les marqueurs de la formation osseuse (PAL, OC), les résultats sont contradictoires. Certaines études ont montré qu'ils se normalisaient ou mieux augmentaient (13,24) alors que d'autres ont mis en évidence une stabilité dans des valeurs basses(20).

L'objectif principal de notre étude est d'étudier les variations du DKK1 et de la sclérostine chez des patients ayant un myélome multiple traité par chimiothérapie qui atteignaient la réponse complète et qui rechutaient par la suite et de rechercher une corrélation entre les taux de ces cytokines et les taux des marqueurs de la formation osseuse à savoir les PAL osseuses (BPAL) et le P1NP.

III Méthodes:

1. Design:

Il s'agissait d'une étude pilote exploratrice prospective longitudinale.

2. Patients:

Il s'agissait d'une étude ancillaire dérivée de l'essai randomisé contrôlé multicentrique IFM 2009.

a) Description du protocole IFM 2009:

– Design de l'essai

Le protocole IFM 2009 de phase III, multicentrique, international, dont le CHU de Toulouse est le promoteur, a pour but de rechercher une supériorité en terme de survie sans progression d'un traitement par Lénalinomide, Bortezomib, Dexaméthasone, et chimiothérapie haute dose (Melphalan 200mg/m²) suivi d'une auto greffe de cellules souches à un traitement par chimiothérapie seule chez des malades âgés de 18 à 65 ans, ayant un myélome symptomatique. Les malades des 2 bras ont ensuite un traitement de maintenance par Lenalinomide seul pendant 12 mois. (cf figure 1).

Figure 1: Traitement bras A/ bras B:

<u>Arm A:</u>	<u>Arm B:</u>
<ul style="list-style-type: none">▪ RVD q 21 days (2 cycles)▪ Collection of peripheral blood stem cells (PBSCs) using cyclophosphamide and GCSF (type Granocyte® or equivalent)	<ul style="list-style-type: none">▪ RVD q 21 days (2 cycles)▪ Collection of peripheral blood stem cells (PBSCs) using cyclophosphamide and GCSF (type Granocyte® or equivalent)
<ul style="list-style-type: none">▪ RVD q 21 days (5 cycles)▪ Maintenance Lenalidomide q28 days (12 months)	<ul style="list-style-type: none">▪ Autologous stem cell transplant:<ul style="list-style-type: none">○ Melphalan: infused over two days (day -2 and day -1) or as a single infusion (day-2) according to institutional practice○ Re-infusion of PBSCs▪ RVD q 21 days (2 cycles)▪ Maintenance Lenalidomide q28 days (12 months)

Sept cents inclusions ont été réalisées en France entre fin 2010 et fin 2012. La période de suivi est de 4 ans après la dernière inclusion soit fin 2016. L'objectif principal est de comparer la survie sans progression entre les 2 bras de randomisation au cours des 4 ans de suivi. La réponse et la progression sont évaluées selon les critères de l'EBMT. Des analyses intermédiaires étaient prévues à la 163^{ème} rechute et à la 328^{ème} rechute.

- Définition de la rechute:

Apparition d'un des critères suivants:

- Réapparition du composant monoclonal sérique sur l'immunofixation ou sur l'électrophorèse sur un prélèvement lors du suivi (>5g/l) ou des chaînes légères urinaires (>100mg/l).
- Plus de 5% de plasmocytes sur une BOM ou un médullogramme
- Apparition d'une nouvelle lésion lytique osseuse ou augmentation de la taille d'une des lésions lytiques osseuses déjà connu.
- Apparition d'une hypercalcémie (calcémie corrigée>2.8 mmol/l) sans autre cause.

- Définition de la réponse complète (CR): tous les critères doivent être présents.
 - disparition de la protéine monoclonale dans le sang et dans les urines en immunofixation sur deux déterminations à six semaines d'intervalle.
 - moins de 5 % de plasmocytes dysmorphiques dans la moelle osseuse.
 - absence d'augmentation de taille ou du nombre des lésions lytiques osseuses et disparition du plasmocytome.

- Les critères d'inclusions du protocole IFM 2009:
 - Patients ayant un myélome multiple (critère diagnostic de 2003) symptomatique (27).
 - Possibilité de suivi du myélome par le composant monoclonal ou par le suivi du taux de chaînes légères libres.
 - Agé de 18 à 65 ans.
 - ECOG <2 (cf score annexe 4).
 - Sérologie HIV négative.
 - Femme: contraception efficace, test de grossesse lors du diagnostic à répéter toutes les quatre semaines.
 - Homme: utilisation d'un préservatif, pas de don de spermatozoïde.
 - Patients acceptant de ne pas faire de don du sang.
 - Patients capables de donner leur consentement.

- Les critères de non inclusion du protocole IFM:
 - Patient déjà traité pour un myélome.
 - Amylose associée.
 - Allergie connue à l'un des traitements.
 - Plaquette <50000mm³ avant l'inclusion.
 - Hb<8g/l à l'initiation du protocole malgré des transfusions de culots globulaires.
 - Anomalie hépatique: bilirubine>1.5 ou TGO >2N, TGP >2N, PAL>2N.
 - Insuffisance rénale créatinine >170µmol/l DFG<50 ml/min.
 - Atteinte DLCO<50%.
 - Neuropathie périphérique grade II.
 - Atteinte cardiaque FEVG <40%.
 - Maladie intercurrente: infection active, hépatite B, C, diabète déséquilibré, décompensation psychiatrique.

- Recueil des données cliniques:

Les patients étaient suivis tous les deux mois dans le cadre du protocole IFM 2009 depuis leur inclusion. Au cours des visites, les données démographiques, tels que l'âge, le sexe, les caractéristiques de la maladie telles que le type de myélome, le stade de la classification de Salmon et Durie, la présence d'anomalie FISH, le nombre d'atteintes osseuses, les caractéristiques biologiques telles que le type de composant monoclonal, la hauteur du pic, les chaînes légères kappa et lambda, l'hémoglobine, la créatinine, la calcémie, la B2 microglobuline ont été collectés à l'inclusion et à chaque visite.

- Echantillons biologiques:

Les sérums ont été prélevés à l'inclusion et à chaque visite et conservés au centre de ressource biologique du CHU de Nantes à -20°.

b) Sélection des patients pour cette étude ancillaire:

En mai 2015, les données cliniques de 163 patients rechuteurs étaient disponibles grâce à la première analyse intermédiaire.

Parmi eux nous avons sélectionné les patients qui répondaient aux critères suivants:

- patients qui ont atteints une CR (voir définition plus haut), et qui ont rechuté par la suite,
- patients pour qui nous avons des sérums disponibles aux temps suivants:
 - à la CR
 - 4 mois avant la rechute
 - à la rechute

Sur les 163 patients de l'analyse intermédiaire, seulement 69 répondaient aux critères de notre étude.

3. Techniques de dosage:

Dans cette étude, nous avons dosé le DKK-1, la sclérostine, les BPAL, le P1NP au temps où le patient avait atteint la réponse complète, au temps du diagnostic de rechute clinico-biologique et 4 mois avant le diagnostic de rechute.

Les prélèvements aliquotés et conservés à Nantes ont été acheminés au Laboratoire de biochimie de l'Institut Fédératif de Biologie (IFB Purpan) où ils ont été conservés à -20°C dans l'attente de la réalisation des dosages. L'ensemble des analyses a été réalisé au sein du laboratoire de biochimie de l'IFB. Les échantillons ont été décongelés entre septembre et novembre 2015.

Le DKK-1 a été dosé avec le kit «enzyme immunoassay for the quantitative détermination of human DKK-1 in serum» ELISA kit, de la société Biomedica. Deux anticorps polyclonaux spécifiques d'épitopes présents sur la protéine DKK-1 interviennent dans ce dosage «sandwich». La limite de détection est de 1.7 pmol/l. Nous avons réalisé des tests de répétabilité sur le DKK1 en décembre 2015. Pour cela nous avons regroupé des sérums de patients (pool de sérum) de même niveau: 14 dosages pour le pool 1 avec une valeur moyenne de DKK-1 à 53.2 pmol/l et un coefficient de variation (CV) à 3.8% et 27 dosages pour le pool 2 avec une moyenne de DKK-1 à 34.09 pmol/l et un CV à 5,22%. Les reproductibilités du fournisseur sont à 3%. La valeur normale du DKK1 donnée par le fournisseur est de 35 pmol/l.

La sclérostine a été dosée avec le kit «Human sclerostin HS EIA Kit», de la société Tecomedical. Ce test est un immunodosage réalisé en deux étapes. La limite de détection est de 0,008 ng/mL. Par manque de sérum, Nous n'avons pas fait de tests de répétabilité, reproductibilité, nous prenons en compte les moins bonnes valeurs de répétabilité et reproductibilité du fournisseur, soit 4.2 % et 4.8 %. Les valeurs normales de la sclérostine varient selon l'âge et le sexe. Les valeurs référentes pour la sclérostine sont les suivantes.

	Sclérostine ng/ml
Pré ménopause	0,27-1,09
Post ménopause	0,20-1,47
homme	0,27-1,20

Devant les résultats très satisfaisants des tests de répétabilité (<10%) de nos dosages du DKK-1 et des résultats donnés par le fournisseur du kit de la sclérostine, nous avons considéré qu'il n'était pas nécessaire de réaliser de duplication sur la sclérostine ce qui a permis de garder plus de sérum pour les analyses de cette étude.

Les P1NP ont été dosés sur l'automate ISYS® de la société IDS. Le principe utilise la méthode appelée «sandwich». Ce test permet de mesurer les propeptides libérés lors de la formation du collagène de type I par maturation du procollagène de type I.

Il est basé sur l'utilisation de deux anticorps monoclonaux hautement spécifiques; l'un étant marqué par la biotine permettant l'association à la streptavidine et l'autre par l'acridinium, permettant la révélation par chimiluminescence. La limite de détection est inférieure à 1 ng/mL et la spécificité est bonne avec moins de 0.03 % de réactions croisées avec les molécules N-MID ostéocalcine. Les CV intra et inter-séries sont respectivement de 3 % et 5.3 %. Nos tests de répétabilité ont été réalisés en décembre 2015 sur deux pools de patients avec 10 dosages sur chaque pool, le CV est de 1,28% sur le pool 1 et de 2,33% sur le pool 2.

Les valeurs normales des P1NP varient en fonction de l'âge et du sexe (28).

	P1NP ng/ml
Homme de 60 à 64 ans	34,4 (27,9-42,4)
Pré ménopause entre 45 et 49 ans	35,7 (26,9-44,2)
Post ménopause 60-64 ans	47,4 (35,2-59,8)

La Phosphatase alcaline osseuse (PAL osseuse) a été mesurée avec le kit «MicroVue BAP Enzyme ImmunoAssay Kit, de la société Quidel». Il s'agit d'un immunodosage sur bandelette coatée avec un Ac monoclonal anti-PAL osseuse. Ce test présente une très grande spécificité pour l'isoenzyme osseux de la PAL avec une réactivité croisée seulement de 3 % pour l'isoenzyme hépatique et de 0,4 % pour l'isoenzyme intestinal. La limite de détection est de 0,7 UI/L. Les CV intra et inter-séries du fournisseur sont respectivement de 5,2 % et 5 %. Les tests de répétabilité ont été réalisés en juillet 2014 au moment de l'accréditation de l'analyse. Les CV niveau 1 sont de 4,14%, niveau 2 de 6,54% et niveau 3 de 4%. La reproductibilité a une précision de 4,97% et 3,51%.

Les valeurs normales données si dessous sont celles du fournisseur du kit de dosage:

	BPAL U/L
Femme <45 ans	11,6-29,6
Femme >45 ans	14,2-42,7
homme	15-41,3

Pour vérifier que la congélation de longue durée (entre 2011 et 2015) n'a pas dégradé les prélèvements, nous avons fait des dosages sur 9 patients nouvellement diagnostiqués, naïfs de traitement, hospitalisés dans le service d'hématologie du CHU de Toulouse. Chez ces 9 patients, nous avons réalisé une analyse sans congélation préalable des bio-marqueurs.

Nous avons comparé les résultats de ces 9 patients aux résultats de nos 69 malades (cf tableau 3). Nous n'avons pas mis en évidence de différence entre les résultats de DKK1, sclérostine, P1NP à T1 ou à T3. Par contre, les PAL sont significativement plus élevées sur les prélèvements non congelés au préalable de l'analyse, ce qui peut nous faire suspecter une dégradation des PAL. C'est la raison pour laquelle nous n'avons pas pris en compte les résultats des PAL dans notre travail.

Tableau 3: Valeurs du DKK1, de la sclérostine, des PAL et du P1NP chez les 9 patients du service d'hématologie de Toulouse.

	DKK1	Sclérostine	PAL	P1NP
T077135	25,0	0.63	30.4	29.2
T077133	209,1	0.74	15.6	29.8
T077139	18,8	0.55	39.8	31.3
T077152	99,2	0.43	17.6	95.3
T077144	23,9	1.03	17.5	36
T077151	13,0	0.45	11	10.3
T077140	38,4	0.38	37.6	
T077143	31,5	0.50	12.5	17.8
T077153	81,1	0.58	22.4	53.7
Moyenne	60+/-63,2	0,59+/-0,20	22,7+/-10,7	37,9+/-26,4
Médiane IQR	31,5 (23,9-81,1)	0,55(0,45-0,63)	17,6 (15,6-30,4)	30,5 (23,5-44,8)
T1 Test de Wilcoxon	0,4027	0,7663	0.0006	0,8938
T3 test de wilcoxon	0,2285	0,0771	0,0068	0,6582

4. Analyses statistiques:

Nous avons utilisé les logiciels: Stata/IC 12.1, College Station, Texas 77845, USA et R (version 3.0.2 The R Foundation for Statistical Computing).

Notre objectif principal était d'évaluer la variation du DKK1 et de la sclérostine à la rémission, quatre mois avant la rechute et à la rechute. La comparaison des médianes du DKK1 et de la sclérostine entre les 3 temps s'est faite par un test non paramétrique sur série appariée (test global de Friedman). La distribution des valeurs de DKK1 et de la sclérostine sont représentées graphiquement par des boîtes à moustache.

Nos objectifs secondaires étaient:

- d'évaluer la variation du P1NP, à la rémission, quatre mois avant la rechute et à la rechute par le test global de Friedman.
- de rechercher une corrélation entre les deux cytokines et le P1NP par un coefficient de corrélation Rho de Spearman.
- de rechercher des associations entre les variations entre T1 et T3 des biomarqueurs et les facteurs cliniques: l'âge, le sexe, la phase de traitement du myélome, le délai avant la rechute, la calcémie, la B2 microglobuline, les éventuelles anomalies FISH par un test de Wilcoxon en cas de variable binaire ou par un test de corrélation de Spearman en cas de variable quantitative.

-de rechercher des associations entre les variations entre T1 et T3 des biomarqueurs et les traitements reçus: patients issus du bras A (chimiothérapie seule) du protocole IFM ou du bras B (chimiothérapie +greffe), prise de biphosphonate, rechute précoce (<1 an) ou tardive (>1an) par un test de Wilcoxon.

-de rechercher des associations entre les taux des deux cytokines et la présence du pic précoce à T2 chez les patients ayant un myélome non à chaîne légère par un test de Wilcoxon.

IV Résultats:

1. Description de la population:

La population avait les caractéristiques suivantes (cf tableau 4), elle était comparable au reste des patients inclus dans le protocole IFM 2009.

Tableau 4: Caractéristiques de la population.

	N=69		Protocole IFM non pris en compte pour cette étude N=631	
Age médian EIQ	56,9 (54-62)		56,7 (53-62)	
Sexe, hommes, n (%)	40 (58,0)		382 (60,5)	
Femmes ménopausées, n (%)	3 (10,3)		43 (17,4)	
Stade myélome multiple, n (%)	I 3 (4,4) II 7 (10,3) III 58 (85,3) Non connu 1		I 17 (2,7) II 63 (10,1) III 544 (87,2) Non connu 7	
Type de myélome, n (%)	Ig A κ	12(17.4)	Ig A κ	78(12.4)
	Ig A λ	6 (8.8)	Ig A λ	46 (7,3)
	Ig G κ	28 (40.6)	Ig G κ	239 (44,2)
	Ig G λ	13 (18.8)	Ig G λ	112 (17.7)
	Ig D κ	0	Ig D κ	4 (0,6)
	Ig D λ	2 (2.9)	Ig D λ	7 (1.1)
	K	4 (5.8)	K	47 (7.4)
	Λ	3 (4.3)	Λ	38 (6)
Atteinte osseuse, n (%)	64 (92,8)		574 (91,5)	
Délai début de traitement – rémission (années), médiane(EIQ)	0,65 (0,49-0,94)		Information manquante	
Délai rémission - rechute (années), médiane±écart-type	1.96±0,52		1,3 ±0,9)	
Biphosphonates, n (%)	37 (53,6)		Information manquante	
β2 microglobuline mg/l, médiane (EIQ)	4 (2)		4 (3)	
Anomalie chromosomique détectée par FISH, n (%)	10/43 (23,3)		Information manquante	

La majorité de nos patients ont atteints la rémission lors de la phase de maintien. (Cf tableau 5)

Tableau 5: Période d'obtention de la rémission dans notre population de 69 malades:

Rémission avant greffe, n (%)	1 (1,4)
Rémission pendant chimiothérapie, n (%)	20 (29,0)
Rémission pendant maintenance, n (%)	40 (58,0)
Rémission pendant suivi, n (%)	6 (8,7)
Rémission à la fin du traitement, n (%)	2 (2,9)

2. Analyse du DKK1 et de la sclérostine aux trois temps:

Il existe une augmentation significative des médianes du DKK1 et de la sclérostine entre T1 et T3 avec le test global de Friedman, observable dès quatre mois avant la rechute. Les médianes du DKK1 à T1, T2 et T3 sont les suivantes: 30 pmol/l (20,4-41,1), 37,4 pmol/l (29,8-49,4), 42 pmol/l (33,8-55,5), $p = 0,0000000009$. Le DKK1 était augmenté à la rechute, (médiane à 42 pmol/l pour une normale à 35 pmol/l), légèrement augmenté quatre mois avant la rechute, (médiane 37,5 pmol/l) et bas à la rémission, (médiane à 30 pmol/l). Les médianes de la sclérostine à T1, T2 et T3 sont de 0,57 ng/ml (0,47-0,69), 0,62 ng/ml (0,53-0,79) et 0,64 ng/ml (0,56-0,79), $p = 0,005$. La médiane de la sclérostine était d'environ 0,6 ng/ml donc dans des valeurs normales aux trois temps. (cf figure 2a, b).

Figure 2a: boîte à moustache, médiane et espace interquartile du DKK1 en pmol/l aux trois temps: rémission, quatre mois avant la rechute, rechute.

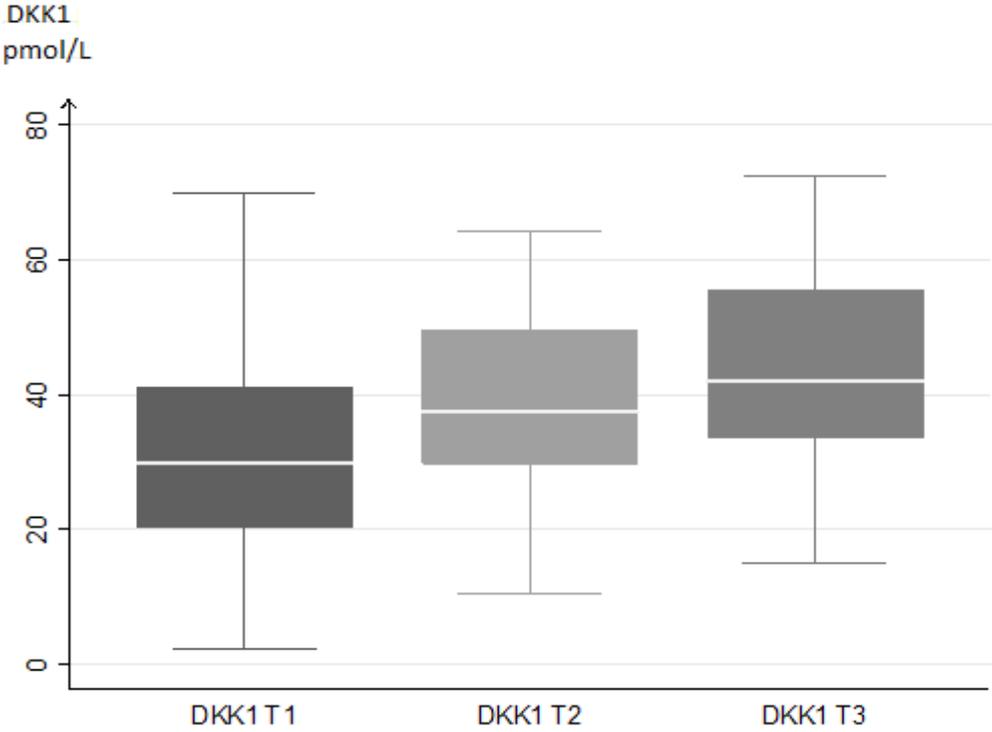
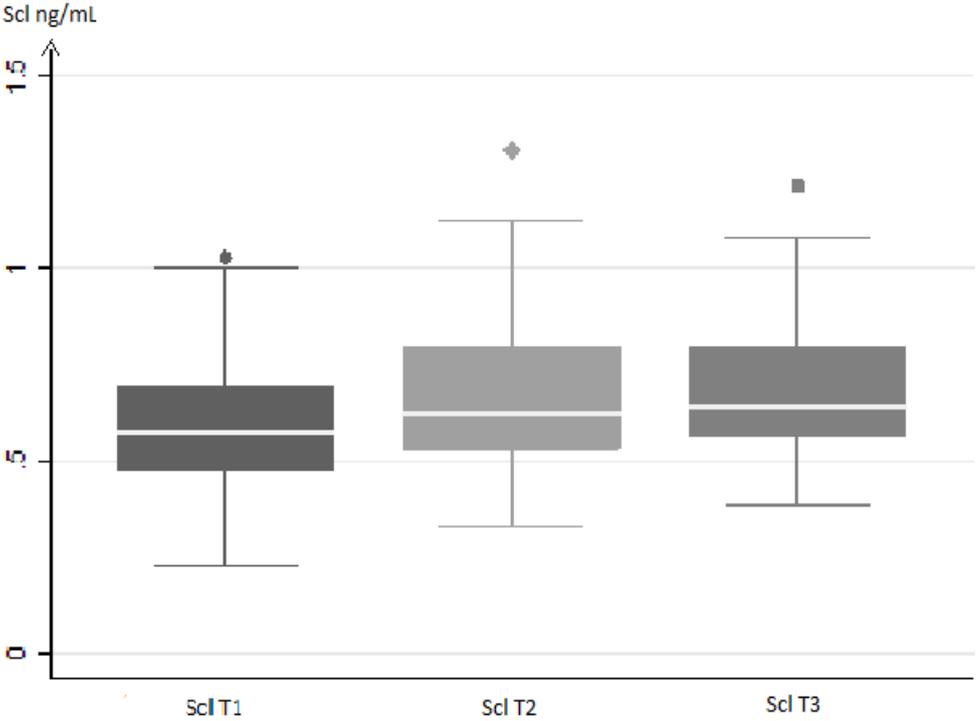


Figure 2b: boîte à moustache, médiane et espace interquartile de la sclérostine en ng/ml aux trois temps: rémission, quatre mois avant la rechute, rechute.

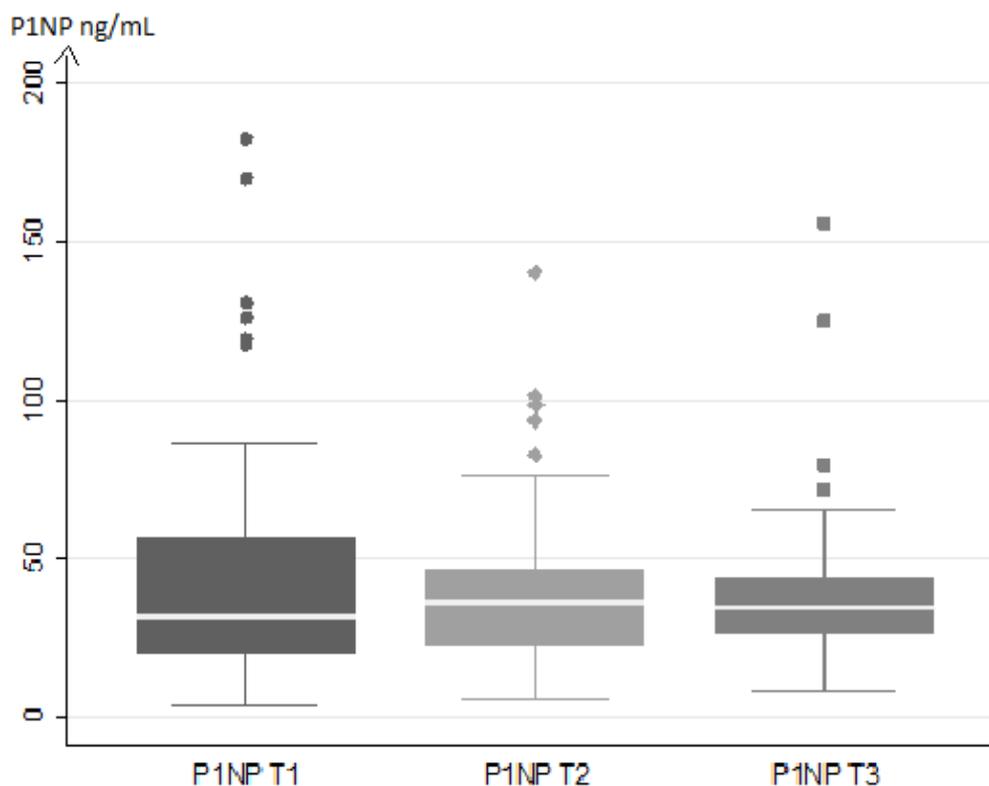


3. Objectifs secondaires:

a) Analyse du P1NP aux trois temps:

Aucune variation significative n'a été mise en évidence lors du test global de Friedman pour le P1NP. Les médianes du P1NP sont à 31,8 ng/ml (19,9-57,3) à T1, 36,3 ng/ml (23,25-46,75) à T2 et 34,7 ng/ml (27,2-44) à T3 avec un $p = 0,9$ (figure 3)

Figure 3: boîte à moustache, médiane et espace interquartile du PNP aux trois temps: rémission, quatre mois avant la rechute, rechute.



Les marqueurs de la formation sont bas à la rechute mais aussi lors de la rémission: Les médianes des P1NP sont entre 31,8 et 36,3 ng/ml donc basses par rapport aux valeurs normales pour les femmes ménopausées et normales pour les hommes (34 ng/ml chez l'homme, 47 ng/ml chez les femmes ménopausées, cf Méthodes technique de dosage).

b) Recherche de corrélations entre les bio-marqueurs:

Aucune corrélation n'a été mise en évidence entre la sclérostine et le DKK1. Il n'y a pas de corrélation entre le DKK1 et le P1NP ni entre la sclérostine et le P1NP (cf Annexe 1).

c) Recherche d'associations entre la variation entre T1 et T3 du taux de DKK1, de sclérostine, de P1NP et les caractéristiques du MM:

Aucune association n'a été mise en évidence entre les caractéristiques du MM (âge, sexe, type de MM, stade Salmon et Durie, présence d'atteinte osseuse, anomalie FISH, rechute précoce/rechute tardive) et la variation entre T1 et T3 du taux de DKK1, de la sclérostine ou du P1NP (cf annexe 2).

d) Recherche d'associations entre la variation entre T1 et T3 du taux de DKK1, de la sclérostine, de P1NP et les traitements reçus:

Aucune association n'a été mise en évidence entre la sclérostine ou le DKK1 et les traitements reçus. (Bras A ou B de traitement dans le protocole IFM, phase de traitement). (cf annexe 2). Il en est de même pour les biphosphonates (cf figures 4a et 4b).

Nous avons comparé le DKK1 et la sclérostine selon le délai entre la dernière administration de biphosphonate et la rechute (< ou égal à 28 mois/ > 28 mois). Nous n'observons pas de différence sur les taux de DKK1 et de sclérostine que les biphosphonates soient administrés plus ou moins de 28 mois avant la rechute.

Figure 4a: Médiane du DKK1 aux trois temps selon la prise ou non de biphosphonate.

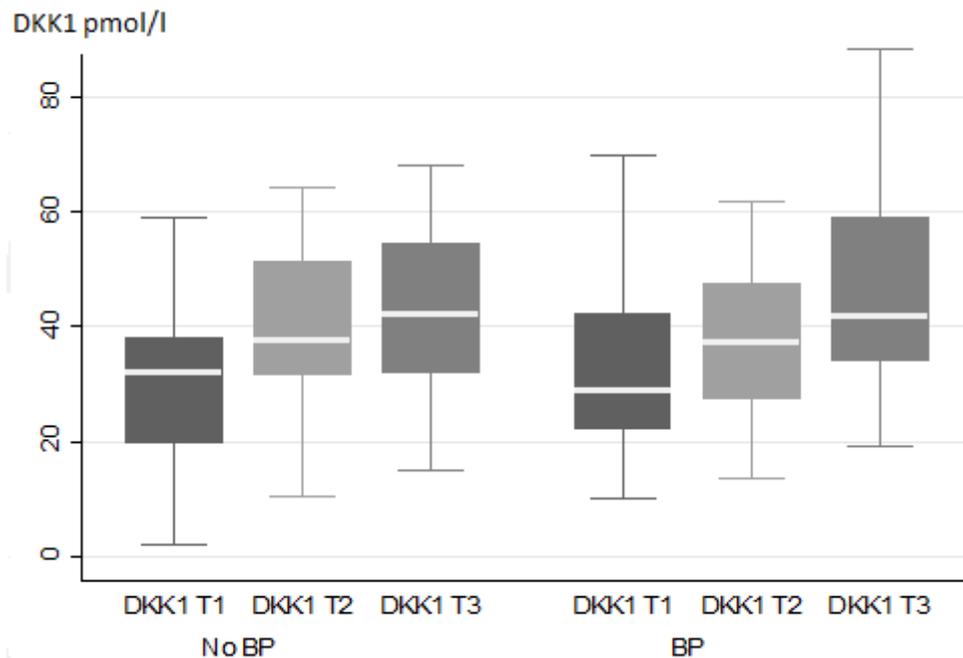
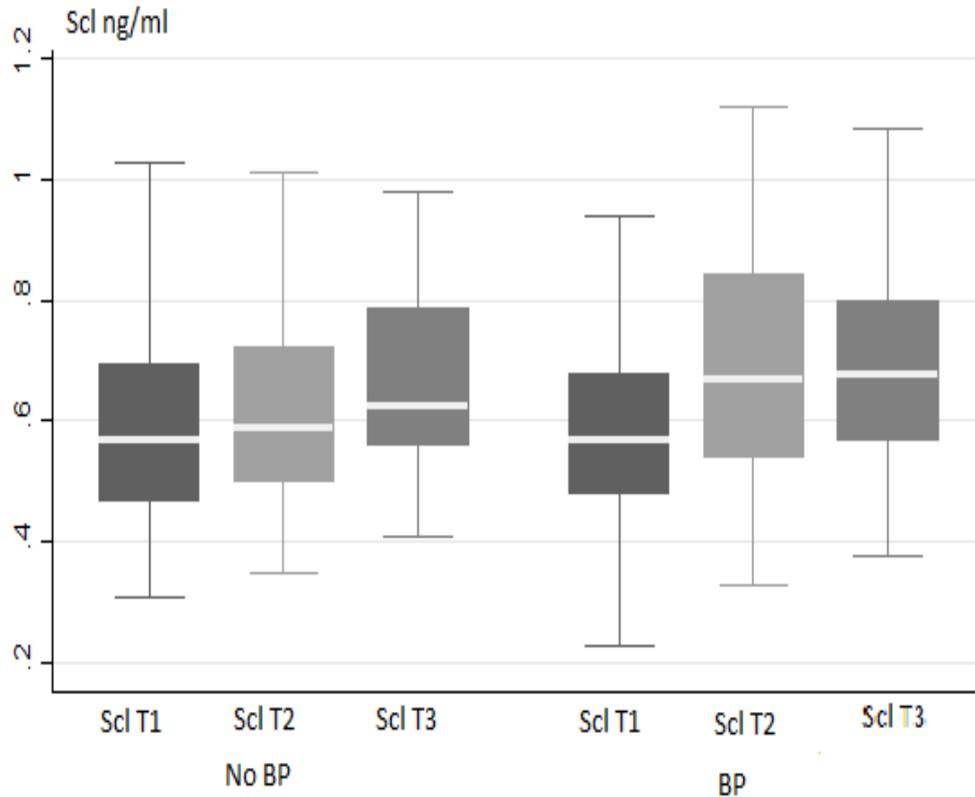
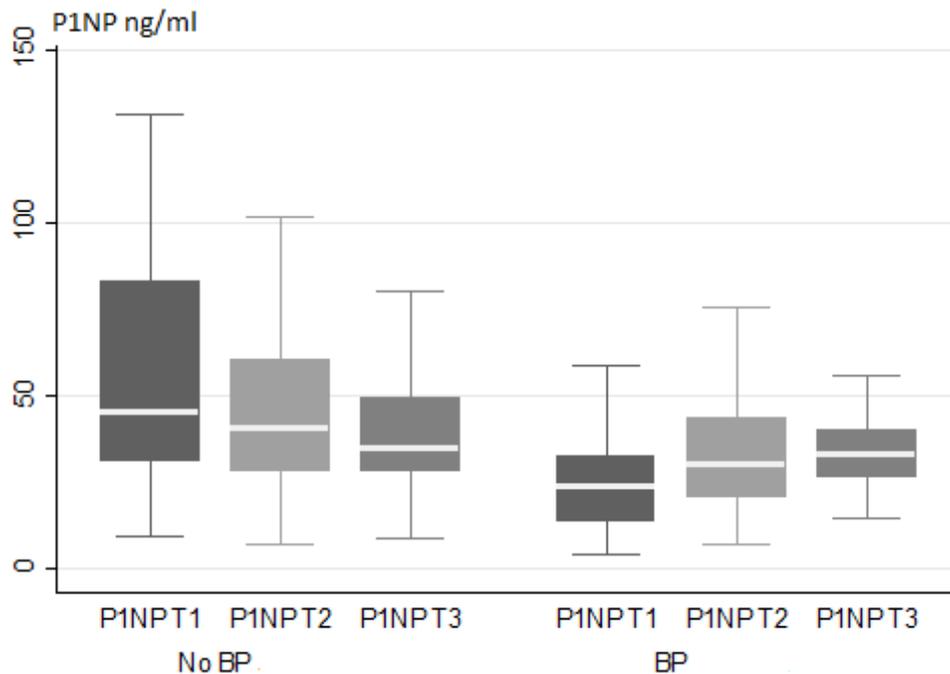


Figure 4b: Médiane sclérostine aux trois temps selon la prise ou non de biphosphonate.



Il existe une association entre l'administration de biphosphonates et les taux de P1NP (cf Annexe 3). Le P1NP était plus bas chez les patients ayant reçu des biphosphonates à T1 (médiane du P1NP à T1 chez les patients sous BP= 23,8 (13,9-32,5), médiane du P1NP chez les patients sans BP à T1= 45,4 (31,2-83) , $p= 0,0004$) et à T2 (médiane du P1NP chez les patients sous BP = 30,2 (30,2-43,4), médiane du P1NP chez les patients sans biphosphonate= 40,4(28,3-60,1) $p=0,019$). A la rechute, les taux de P1NP étaient comparables entre les deux groupes (médiane du P1NP à T3 chez les patients sous biphosphonates= 33,2 (26,3-36,9) et médiane du P1NP à T3 des patients sans biphosphonate= 34,8 (28,2-49,4) $p=0,2$). Entre T2 et T3 les taux de P1NP diminuaient de façon significative chez les patients qui n'avaient pas reçu de biphosphonate. Ils ne variaient pas chez les patients qui en avaient reçus. (cf figure 4c). Nous avons comparé le P1NP selon le délai entre la dernière administration de biphosphonates et la rechute (< ou égal à 28 mois/ > 28 mois). Nous n'avons pas observé de différence sur les taux de P1NP en fonction du délai de dernière administration des biphosphonates. Dans les deux cas les P1NP étaient bas.

Figure 4c: Médiane du P1NP aux trois temps selon la prise ou non de biphosphonate.



e) Evaluation de la précocité de l'augmentation des taux du DKK1 ou de la sclérostine avant la rechute, comparée au composant monoclonal:

Nous avons obtenu les données biologiques sur la présence d'un pic ou non quatre mois avant la rechute pour 49 patients sur 69 (20 données manquantes). Nous avons exclu les myélomes à chaîne légère (8 malades). Notre analyse a été réalisée sur 41 patients. Aucune association n'a été mise en évidence entre les deux cytokines et la présence d'un pic >0 quatre mois avant la rechute chez les 41 patients ayant un myélome non à chaînes légères.

Nous avons déterminé une valeur à partir de laquelle nous pouvons être sûrs à 99% que le DKK1 ou la sclérostine augmentent de façon statistiquement significative. Ce seuil de variation significative est de 14,3 pmol/l pour le DKK1 et de 0,199 ng/ml pour la sclérostine

57% (34/60) des patients avaient une augmentation significative du DKK1 entre T1 et T2.

32% (13/41) des patients avaient une augmentation significative du DKK1 entre T1 et T2 avec un pic indétectable à T2.

72% (43/60) des patients avaient une augmentation significative de la sclérostine entre T1 et T2.

49% (20/41) des patients avaient une augmentation significative de la sclérostine entre T1 et T2 avec un pic indétectable à T2.

Augmentation du DKK1 entre T1 et T2 chez des patients ayant un pic positif ou non à T2.

	Augmentation du DKK1	Pas d'augmentation du DKK1
Pic à T2 =0	16/41 (39%) Médiane à T1= 31,65 (21,55-41,95) Médiane à T2= 44 (33,15-50,54)	8/41 (19,5%)
Pic + à T2	13/41 (31%)	4/41 (9,7%)

Augmentation de la sclérostine entre T1 et T2 chez des patients ayant un pic positif ou non à T2.

	Augmentation sclérostine	Pas d'augmentation de la sclérostine
Pic=0	20/41 (48,8%) Médiane à T1= 0,50 (0,46-0,63) Médiane à T2=0,56 (0,50-0,71)	4/41 (9,7%)
Pic +	8/41 (19,5%)	9/41 (21,9%)

V Discussion:

Nous avons observé une augmentation significative des médianes du DKK1 et de la sclérostine à la rechute et quatre mois avant la rechute soit avant que le composant monoclonal soit détectable. 57% des patients avaient une augmentation significative du DKK1 entre T1 et T2 et 72 % avaient une augmentation significative des taux de sclérostine entre T1 et T2.

Il n'y avait pas de corrélation entre le DKK1 et la sclérostine aux trois temps de dosage. Ces deux cytokines ne sont pas corrélées aux P1NP à T1 et T3, ni aux biphosphonates. Il n'y avait pas de corrélation entre le DKK1 et le composant monoclonal à T2.

Les marqueurs de la formation ostéoblastique (P1NP) restaient bas malgré la réponse complète comparés aux valeurs normales données par le fournisseur. Les biphosphonates freinaient la sécrétion des P1NP.

Le DKK1 et la sclérostine n'étaient pas corrélées entre eux aux trois temps. Nous pouvons supposer qu'ils ne sont pas sécrétés par la même cellule. La sclérostine serait sécrétée par les ostéocytes (16,17). Le DKK1 serait sécrété par les cellules souches stromales mésenchymateuses. En effet, l'étude de Corre et al avait mis en évidence une sur-expression du DKK1 par cette cellule souche mésenchymateuse stromale chez des patients atteints de MM au moment du diagnostic de la maladie (29).

Dans le MM, la résorption osseuse est augmentée et la formation inhibée. Lors de la réponse thérapeutique, l'hyper-résorption osseuse diminue. L'ostéoblastogénèse reste inhibée malgré une réponse thérapeutique complète. Les P1NP n'étaient pas corrélés négativement au taux de DKK1 ou à la sclérostine. Le DKK1 et la sclérostine n'inhibent peut-être pas la formation osseuse à ce stade de la maladie. Le P1NP n'est peut-être pas le reflet de l'activité de formation osseuse des cellules myélomateuses.

Des études avec d'autres marqueurs de formation osseuse et histomorphométriques pourraient être intéressantes.

L'augmentation précoce du DKK1 et de la sclérostine, 4 mois avant la rechute, alors que le CM est indétectable n'a peut-être pas de pertinence clinique. Ces cytokines n'ont probablement pas de rôle direct sur la prolifération du composant monoclonal car nous n'avons pas mis en évidence d'association entre ces dernières et le CM, mais peut-être un rôle indirect. Des co-cultures cellulaires impliquant plasmocytes tumoraux, stroma mésenchymateux avec addition ou non de DKK1 et sclérostine pourraient être informatives.

L'étude de Laroche et al, visait à comparer le taux de DKK1 au moment du diagnostic de myélome au taux obtenu lors de la meilleure réponse thérapeutique. Ce dernier diminuait de façon significative après la chimiothérapie chez les patients très bons répondeurs (20). L'étude de Heider et al a montré une diminution du DKK1 chez les répondeurs complets ou partiels et une stabilité du DKK1 chez les non répondeurs (22). Notre étude confirmait que le DKK1 est bas à la rémission (30 pg/ml pour une normal à 36 pg/ml) et a montré que le DKK1 augmentait lors de la rechute du myélome.

Dans l'étude de Lemaire O et al, le DKK1 a été dosé sur 39 patients au moment de la greffe, 6 mois après la greffe et 12 mois après la greffe. Ils ont mis en évidence une augmentation significative du DKK1 chez les patients qui étaient en rechute précoce (= reprise du traitement <18 mois après la greffe) et une stabilité du DKK1 chez les patients qui rechutaient tardivement. Dans notre étude nous avons comparé les patients qui ont rechuté précocement (<12 mois) versus tardivement (>12 mois) et il n'y avait pas de différence entre les deux groupes sur les taux de sclérostine et de DKK1 au moment de la rémission. De plus, comme dans notre étude, les auteurs n'avaient pas mis en évidence de corrélation entre le DKK1 et le pic monoclonal. Il s'agirait donc de deux facteurs indépendants (21). Dans notre étude, nous avons montré que pour 39% des malades, les variations des taux de DKK1 étaient plus informatives que le composant monoclonal quatre mois avant la rechute.

Le P1NP marqueur de la formation osseuse était bas à la rémission ce qui est le cas aussi dans l'étude de Roodman et Laroche (11,20). Ceci est en contradiction avec les résultats des études de Terpos (24). L'étude de Terpos 2006 a montré une augmentation des PAL chez tous les patients et surtout ceux qui étaient en très bonne réponse ou réponse complète (24). L'étude de Politou et al a montré que les marqueurs de la résorption osseuse se normalisaient 8 semaines après la fin du traitement par chimiothérapie et que cela se maintenaient dans le temps et que les marqueurs de la formation augmentaient après la greffe (13).

Dans notre étude, le DKK1 et la sclérostine augmentaient à la rechute du MM. Cette augmentation a été observée quatre mois avant la rechute alors que le composant monoclonal était le plus souvent encore indétectable. Ces deux cytokines pourraient constituer des marqueurs précoces de rechute du MM. L'intérêt du traitement plus précoce des rechutes du myélome reste à démontrer. Le DKK1 et la sclérostine sont connues dans l'ostéoporose pour inhiber la formation osseuse même si nous n'avons pas mis en évidence de corrélation avec le P1NP dans notre étude. Le DKK1 et la sclérostine ne sont peut-être pas les deux seuls facteurs à l'origine de cette inhibition. Health et al ont montré qu'en présence d'un anti DKK1, il existait une augmentation du nombre et de l'activité des ostéoblastes par l'intermédiaire de l'ostéocalcine, une augmentation de la minéralisation osseuse et une diminution du nombre de lésions ostéolytiques (15). Il n'y a en revanche pas d'effet sur les ostéoclastes.

A l'heure actuelle, il existe des biomédicaments ciblant le DKK1 et la sclérostine qui sont en cours de développement dans le traitement du myélome multiple (15,29,30).

Ces thérapies ciblées pourraient à l'avenir constituer un traitement complémentaire dans le myélome multiple pour favoriser la formation et la minéralisation osseuse et peut être éviter l'apparition de nouvelle LLO.

Notre étude est une étude ancillaire au protocole IFM 2009 qui est un essai randomisé multicentrique contrôlé de bonne qualité méthodologique. Il s'agit du premier travail qui étudie la variation du DKK1 à la rémission et à la rechute chez un même patient. Nous avons réalisé des dosages des CTX, marqueur de la résorption osseuse. Ces dernières très basses aux trois temps ont très probablement été dégradées avec la congélation. Nous n'avons donc pas présenté les résultats dans ce travail. En ce qui concerne les marqueurs de la formation osseuse, nous avons pris en compte que les P1NP car les PAL ne sont pas interprétables du fait d'une probable dégradation suite à la congélation. Nous n'avons pas de dosage au moment du diagnostic, avant le traitement du MM. Nous avons été limités par le coût des analyses biologiques. Des études antérieures ont montré une augmentation du DKK1 et de la sclérostine et une diminution de la fonction osteoblastique chez les MM non traités.

VI Conclusion:

Des études précédentes sur le remodelage osseux du MM ont mis en évidence une hyper résorption osseuse lors de l'évolution de la maladie et une diminution lorsque la prolifération plasmocytaire était contrôlée par la chimiothérapie. Les marqueurs biologiques de la formation ostéoblastique sont bas lors de l'évolution du MM. Lors de la réponse complète, les résultats sont discordants: augmentation des PAL (13,24) ou persistance d'un taux bas malgré une réponse complète dans notre étude (P1NP).

Les taux de DKK1 sont proportionnels au stade de la maladie et à l'importance des LLO, il diminue lorsque le traitement est efficace et augmente dès quatre mois avant la rechute et donc avant la prolifération du composant monoclonal. La sclérostine suit la même cinétique que le DKK1 mais l'absence de corrélation entre ces deux cytokines laisse envisager une sécrétion par des cellules différentes, ce qui est le cas dans l'ostéoporose.

Le DKK1 et la sclérostine sont non corrélés aux P1NP et ne sont donc peut-être pas les deux seuls inhibiteurs de l'osteoblaste dans le MM.

Des études histomorphométriques permettraient de vérifier que les dosages des marqueurs de la formation osseuse correspondent réellement à l'activité osteoblastique et pourraient évaluer la minéralisation osseuse.

le 26.02.2016
Vu permis d'imprimer
Le Doyen de la Faculté
De Médecine Rangueil
E. SERRANO

Vu et accord
pour impression
Professeur Alain CANTAGREL
RPPS 10002859576
Rhumatologie
Hôpital Pierre-Paul Riquet
Place du Docteur Baylac - TSA 40031
31059 TOULOUSE Cedex 9

VII Références:

1. Terpos E, Christoulas D, Kastiris E, Roussou M, Migkou M, Eleutherakis-Papaiakovou E, et al. VTD consolidation, without bisphosphonates, reduces bone resorption and is associated with a very low incidence of skeletal-related events in myeloma patients post ASCT. *Leukemia*. avr 2014;28(4):928-34.
2. Noble BS. The osteocyte lineage. *Arch Biochem Biophys*. 15 mai 2008;473(2):106-11.
3. Giuliani N, Colla S, Sala R, Moroni M, Lazzaretti M, La Monica S, et al. Human myeloma cells stimulate the receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand (RANKL) in T lymphocytes: a potential role in multiple myeloma bone disease. *Blood*. 15 déc 2002;100(13):4615-21.
4. Hameed A, Brady JJ, Dowling P, Clynes M, O’Gorman P. Bone disease in multiple myeloma: pathophysiology and management. *Cancer Growth Metastasis*. 2014;7:33-42.
5. ..Kupisiewicz K. Biological aspects of altered bone remodeling in multiple myeloma and possibilities of pharmacological intervention. *Dan Med Bull*. mai 2011;58(5):B4277.
6. Oranger A, Carbone C, Izzo M, Grano M. Cellular mechanisms of multiple myeloma bone disease. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:289458.
7. Terpos E, Berenson J, Raje N, Roodman GD. Management of bone disease in multiple myeloma. *Expert Rev Hematol*. févr 2014;7(1):113-25.
8. Sezer O. Myeloma bone disease: recent advances in biology, diagnosis, and treatment. *The Oncologist*. mars 2009;14(3):276-83.
9. Vallet S, Pozzi S, Patel K, Vaghela N, Fulciniti MT, Veiby P, et al. A novel role for CCL3 (MIP-1 α) in myeloma-induced bone disease via osteocalcin downregulation and inhibition of osteoblast function. *Leukemia*. juill 2011;25(7):1174-81.
10. CCR1 blockade reduces tumor burden and osteolysis in vivo in a mouse model of myeloma bone disease. - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 24 sept 2015]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22618707>
11. Roodman GD. Pathogenesis of myeloma bone disease. *Leukemia*. mars 2009;23(3):435-41.
12. Sfiridaki A, Miyakis S, Pappa C, Tsirakis G, Alegakis A, Kotsis V, et al. Circulating osteopontin: a dual marker of bone destruction and angiogenesis in patients with multiple myeloma. *J Hematol Oncol J Hematol Oncol*. 2011;4:22.
13. Politou MC, Heath DJ, Rahemtulla A, Szydlo R, Anagnostopoulos A, Dimopoulos MA, et al. Serum concentrations of Dickkopf-1 protein are increased in patients with multiple myeloma and reduced after autologous stem cell transplantation. *Int J Cancer J Int Cancer*. 1 oct 2006;119(7):1728-31.

14. Kaiser M, Mieth M, Liebisch P, Oberländer R, Rademacher J, Jakob C, et al. Serum concentrations of DKK-1 correlate with the extent of bone disease in patients with multiple myeloma. *Eur J Haematol.* juin 2008;80(6):490-4.
15. Heath DJ, Chantry AD, Buckle CH, Coulton L, Shaughnessy JD, Evans HR, et al. Inhibiting Dickkopf-1 (Dkk1) removes suppression of bone formation and prevents the development of osteolytic bone disease in multiple myeloma. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* mars 2009;24(3):425-36.
16. Brunetti G, Oranger A, Mori G, Specchia G, Rinaldi E, Curci P, et al. Sclerostin is overexpressed by plasma cells from multiple myeloma patients. *Ann N Y Acad Sci.* nov 2011;1237:19-23.
17. Elevated circulating sclerostin correlates with advanced disease features and abnormal bone remodeling in symptomatic myeloma: reduction post-bortezomib... - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 28 sept 2015]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=elevated+circulating+sclerostin+correlates+with+advanced+disease>
18. Terpos E, Kastritis E, Christoulas D, Gkotsamanidou M, Eleutherakis-Papaiakovou E, Kanellias N, et al. Circulating activin-A is elevated in patients with advanced multiple myeloma and correlates with extensive bone involvement and inferior survival; no alterations post-lenalidomide and dexamethasone therapy. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO.* oct 2012;23(10):2681-6.
19. Chantry AD, Heath D, Mulivor AW, Pearsall S, Baud'huin M, Coulton L, et al. Inhibiting activin-A signaling stimulates bone formation and prevents cancer-induced bone destruction in vivo. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* déc 2010;25(12):2633-46.
20. Laroche M, Lemaire O, Bourin P, Corre J, Gadelorge M, Roussel M, et al. Dual-energy X-ray absorptiometry and biochemical markers of bone turnover after autologous stem cell transplantation in myeloma. *Eur J Haematol.* mai 2012;88(5):388-95.
21. Lemaire O, Attal M, Bourin P, Laroche M. DKK1 correlates with response and predicts rapid relapse after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Eur J Haematol.* mars 2010;84(3):276-7.
22. Heider U, Kaiser M, Mieth M, Lamottke B, Rademacher J, Jakob C, et al. Serum concentrations of DKK-1 decrease in patients with multiple myeloma responding to anti-myeloma treatment. *Eur J Haematol.* janv 2009;82(1):31-8.
23. Delforge M, Terpos E, Richardson PG, Shpilberg O, Khuageva NK, Schlag R, et al. Fewer bone disease events, improvement in bone remodeling, and evidence of bone healing with bortezomib plus melphalan-prednisone vs. melphalan-prednisone in the phase III VISTA trial in multiple myeloma. *Eur J Haematol.* mai 2011;86(5):372-84.
24. Terpos E, Heath DJ, Rahemtulla A, Zervas K, Chantry A, Anagnostopoulos A, et al. Bortezomib reduces serum dickkopf-1 and receptor activator of nuclear factor- κ B ligand concentrations and

normalises indices of bone remodelling in patients with relapsed multiple myeloma. *Br J Haematol.* 1 déc 2006;135(5):688-92.

25. Lund T, Abildgaard N, Andersen TL, Delaisse J-M, Plesner T. Multiple myeloma: changes in serum C-terminal telopeptide of collagen type I and bone-specific alkaline phosphatase can be used in daily practice to detect imminent osteolysis. *Eur J Haematol.* mai 2010;84(5):412-20.

26. Zangari M, Yaccoby S, Cavallo F, Esseltine D, Tricot G. Response to bortezomib and activation of osteoblasts in multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma.* sept 2006;7(2):109-14.

27. International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol.* juin 2003;121(5):749-57.

28. Michelsen J, Wallaschofski H, Friedrich N, Spielhagen C, Rettig R, Ittermann T, et al. Reference intervals for serum concentrations of three bone turnover markers for men and women. *Bone.* déc 2013;57(2):399-404.

29. Corre J, Mahtouk K, Attal M, Gadelorge M, Huynh A, Fleury-Cappellesso S, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells are abnormal in multiple myeloma. *Leukemia.* mai 2007;21(5):1079-88.

30. Fulciniti M, Tassone P, Hideshima T, Vallet S, Nanjappa P, Ettenberg SA, et al. Anti-DKK1 mAb (BHQ880) as a potential therapeutic agent for multiple myeloma. *Blood.* 9 juill 2009;114(2):371-9.

31. Iyer SP, Beck JT, Stewart AK, Shah J, Kelly KR, Isaacs R, et al. A Phase IB multicentre dose-determination study of BHQ880 in combination with anti-myeloma therapy and zoledronic acid in patients with relapsed or refractory multiple myeloma and prior skeletal-related events. *Br J Haematol.* nov 2014;167(3):366-75.

VIII Annexes

Annexe 1:

Corrélation entre les cytokines et le P1NP à T1 et à T3.

A T1

Corrélation	sclérostine	P1NP
DKK1	R de Pearson= 0.0472 P=0.7004	Rho de Spearman =0.1628 P=0.1814
sclérostine		Rho de Spearman =0.0294 P=0.8106

A T3

Corrélation	sclérostine	P1NP
DKK1	Rho de Spearman=0.0595 P=0.6274	Rho de Spearman=0.2215 P=0.0674
sclérostine		Rho de Spearman= -0.0780 P=0.5240

Annexe 2:

Association entre les caractéristiques cliniques du MM et le DKK1, et la sclérostine et le P1NP.

	ΔT1-T3 DKK1	ΔT1-T3 sclérostine	ΔT1-T3 P1NP
Age Rho de Spearman	Rho =0.1906 P=0.1168	Rho = -0.1809 P=0.1368	Rho = 0.1408 P=0.2485
Sexe Test de Mann-Whitney (Wilcoxon)	Femmes: 41.6 (21.2-182.9) Hommes: 36.6 (9.2-66.2) P=0.2383	Femmes: 14.3 (0-31.2) Hommes: 15.3 (-1.2-29.0) P=0.8505	Femmes: -1.1 (-44.9-56.5) Hommes: 16.6 (-29.6-56.8) P=0.4294
Type de myélome	Ig A κ: 29.4 (1.3-44.4) Ig A λ: 34.6 (17.6-931.8) Ig G κ:41.6 (19.3-108.2) Ig G λ: 26.1 (15.9-118.8) Ig D λ: -12.1 (-19.0-5.3) chaîne légère κ: 88.3 (42.5-115.8) chaîne légère λ: 190 (32.0-340.8) P(K-Wallis)=0.2626	Ig A κ: 23.4 (13.5-41.9) Ig A λ: 24.9 (10.3-76) Ig G κ: 10.6 (-5.6-22.4) Ig G λ l: 14.5 (-2.4-22.8) Ig D λ: 35.3 (15.2-55.3) chaîne légère κ: 1.7 (-2.4-13.3) chaîne légère λ: 28.1 (16.9-100) P(K-Wallis)=0.1593	Ig A κ: -25.9 (-50.0-42.9) Ig A λ: -33.6 (-44.9-17.8) Ig G κ: 17.3 (-44.5-62.2) Ig G λ l: 16.3 (-27.5-61.8) Ig D λ: -17.6 (-33.1- -2.1) chaîne légère κ: 25 (17.4-38.8) chaîne légère λ: 243.0 (33.0-380.3) P(K-Wallis)=0.2098
Stade Salmon Durie	I 48 (21.2-108.1) II 23.9 (1.7-118.8) III 39.8 (16.4-158.9) P(K-Wallis)=0.5314	I 19.0 (5.3-19.6) II 21.3 (-6.1-46.9) III 14.3 (-1.9-29.2) P(K-Wallis)=0.9209	I 139.7 (-59.4-171.7) II -1.1 (-59.6-30.5) III 16.5 (-37.0-56.5) P(K-Wallis)=0.4772
Présence d'atteinte osseuse Test de Mann-Whitney (Wilcoxon)	Oui: 36.6 (16.1-120.2) Non: 43.3 (32.5-48) P=0.9446	Oui: 14.4 (0-31.3) Non: 13.2 (-2.4-18.2) P=0.3918	Oui: 16.6 (-35.5-56.1) Non: -44.9 (-59.4-57.5) P=0.4313
Anomalie chromosomique détectée par FISH Test de Mann-Whitney (Wilcoxon)	Oui: 14.3 (-18.6-158.9) Non: 38.0 (17.6-66.5) P=0.4209	Oui: 14.6 (10.3-25.5) Non: 12.8 (-6.1-26.5) P=0.4902	Oui: -17.2 (-55.0-17.2) Non: 17.4 (-29.1-58.4) P=0.2273
Rechute précoce vs tardive Test de Mann-Whitney (Wilcoxon)	Précoce (≤12 mois): 41.6 (9.4-190) Tardive (>12 mois):36.6 (17.6-95.0) P=0.6142	Précoce (≤12 mois): 14.3 (-2.4-21.3) Tardive (>12 mois):14.7 (0-31.3) P=0.3962	Précoce (≤12 mois): 18 (-29.1-58.4) Tardive (>12 mois):-4.0 (-44.5-56.5) P=0.4459

Annexe 3 :

Association entre les traitements reçus du MM et le DKK1, la sclérostine et le P1NP.

	ΔT1-T3 DKK1	ΔT1-T3 sclérostine	ΔT1-T3 P1NP
Type de chimiothérapie (bras A vs bras B) Test de Mann-Whitney (Wilcoxon)	A: 37.5 (15.9-118.8) B: 38.7 (18.2-133.5) P=0.6224	A: 14.3 (0-50.8) B: 14.6 (-0.9-24.7) P=0.3457	A: 17.8 (-40.6-84.8) B: 7.1 (-35.5-41.7) P=0.5806
Prise de biphosphonates Test de Mann-Whitney (Wilcoxon)	Oui: 37.5 (9.5-190) Non: 36.9 (18.2-80.7) P=0.8568	Oui: 15.4 (7.9-31.2) Non: 13.3 (-6.0-22.3) P=0.1836	Oui: 33.0 (16.3-87.0) Non: -28.3 (-49.2-8.0) P=0.0002
Phase de traitement Test de Kruskal-Wallis	Induction ou avant induction: 29.4 (-5.3-283.2) Maintien: 39.8 (17.7-140.2) Suivi ou fin de traitement: 36.6 (25.6-55.9) P=0.8757	Induction ou avant induction: 21.3 (13.3-55.3) Maintien: 14.1 (-2.1-25.0) Suivi ou fin de traitement: 9.6 (-9.2-20.0) P=0.0577	Induction ou avant induction: 16.7 (-29.1-31.9) Maintien: -3.5 (-45.1-55.5) Suivi ou fin de traitement: 36.9 (-35.7-117.2) P=0.4133

Annexe 4:

Score ECOG

GRADE ECOG PERFORMANCE STATUS

- 0 Fully active, able to carry on all pre-disease performance without restriction
- 1 Restricted in physically strenuous activity but ambulatory and able to carry out work of a light or sedentary nature, e.g., light house work, office work
- 2 Ambulatory and capable of all selfcare but unable to carry out any work activities; up and about more than 50% of waking hours
- 3 Capable of only limited selfcare; confined to bed or chair more than 50% of waking hours
- 4 Completely disabled; cannot carry on any selfcare; totally confined to bed or chair
- 5 Dead

IX Abstract:

Increase of DKK1 and sclerostine: early markers of relapse of multiple myeloma?

Mabille C, Ruysse-witrand A, Attal M, Gennero I, Corre J, Hébraud B, Roussel M, Nigon D, Avet loiseau H, Laroche M

BACKGROUND: The osteolytic lesions of the multiple myeloma (MM) are related to an inhibition of osteoblast activity and an increase of osteoclast activity. The inhibition of osteoblast activity, could result from an increase of several soluble inhibitors of the WNT pathway Dickkopf-related protein (DKK1) and sclerostine (1,2)

OBJECTIVES: To measure the DKK1, sclerostine and bone metabolism biomarkers (P1NP, BPAL) at remission (T1), 4 months before relapse (T2) and at relapse (T3) in patients treated for a MM.

METHODS: Patients: This is an ancillary study of the IFM 2009 study, a randomized trial comparing the progression-free survival of patients treated by Revlimid, Velcade, Dectancyl with or without intensification and peripheral blood stem cell transplant. In this study, 69 patients who reached a complete remission defined by the absence of the monoclonal component and who relapsed, defined by an increase of the monoclonal component above 5g/L, within the 4 years of follow-up were selected. Biomarkers: Sera at (T1), (T2) and (T3) were obtained and DKK1, sclerostine, bone biomarkers were measured with ELISA biomedical and teicomedical Analysis: Medians of each biomarker were compared through the 3 time points with a Friedman's test. Correlations between biomarkers were tested with a Spearman test.

RESULTS: There was a significant increase of the medians of DKK1 and sclerostine between T1, T2 and T3 (DKK1 medians (IQR) at T1=30 pmol/l (30,4-41,1), T2= 37,4 pmol/l (29,8-49,4), T3= 42 pmol/l (33,8-55,5), $p < 0,0001$, sclerostine medians (IQR) at T1=0,57 ng/ml (0,47-0,69), T2= 0,62 (0,53-0,79), T3=0,64 ng/ml (0,56-0,79) $p < 0,0001$). The increases of DKK1 and sclerostine precede the relapse: about 39% of patients who had an undetectable monoclonal component at T2 had already an increase of DKK1 (median T1=31,65 pmol/l (21.65-42), median T2=44 pmol/l (31,05-50,54)) and sclerostine (median T1= 0.49ng/ml (0.4-0.62), median T2=0.59 ng/ml (0.53-0.82)) between T1 and T2. There was neither correlation between DKK1 and sclerostine (test de Spearman -0,112 $p = 0,35$) nor between these two cytokines and bone markers.

DISCUSSION: DKK1 and sclerostine increase at MM relapse and this increase could be observed 4 months before the relapse. This cytokine increase, preceding the plasma cell proliferation suggests an early dysfunction of bone cells (ostéoblastes, ostéocytes) or stromal cells. There was no correlation between these two cytokines and bone markers, suggesting they couldn't have expressed on osteoblasts at this stage of the disease.

Références:

1. Lemaire O, Attal M, Bourin P, Laroche M. DKK1 correlates with response and predicts rapid relapse after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Eur J Haematol.* mars 2010;84(3):276-7.
2. Laroche M, Lemaire O, Bourin P, Corre J, Gadelorge M, Roussel M, et al. Dual-energy X-ray absorptiometry and biochemical markers of bone turnover after autologous stem cell transplantation in myeloma. *Eur J Haematol.* mai 2012;88(5):388-95.

LE DKK1 ET LA SCLÉROSTINE SERAIENT-ILS DES MARQUEURS PRÉDICTIFS DE RECHUTE DU MYÉLOME ?

RÉSUMÉ EN FRANCAIS:

Objectif: L'objectif principal est d'étudier les variations du DKK1 et de la sclérostine lors de la réponse complète (RC) (T1), avant la rechute (T2) et à la rechute (T3) chez des patients ayant un myélome traité.

Méthodes: Nous avons inclus 69 patients pour lesquels une RC a été obtenue puis qui rechutent. Nous avons dosé aux trois temps le DKK1, la sclérostine, et le P1NP.

Résultats: Il existe une augmentation significative des médianes du DKK1 et de la sclérostine entre T1 et T3. 57% des patients avaient une augmentation significative des taux de DKK1 entre T1 et T2. 72% des patients pour la sclérostine.

Conclusion: Le DKK1 et la sclérostine augmentent précocement, avant la rechute du myélome.

TITRE EN ANGLAIS: Increase of DKK1 and sclerostine: early markers of relapse of multiple myeloma?

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Médecine spécialisée clinique, Rhumatologie

MOTS-CLÉS : myélome multiple, DKK1, sclérostine, marqueurs du remodelage osseux

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE
Université Toulouse III-Paul Sabatier
Faculté de médecine Toulouse-Purpan,
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directeur de thèse : Michel LAROCHE