

Année 2017/2018

N°

Thèse

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État
par

Nicolas VALLET

Né(e) 04/03/1989 à TREMBLAY-EN-FRANCE (93)

TITRE

CARACTERISTIQUES ET IMPACT PRONOSTIC DE LA SURVENUE
D'UNE HYPERCALCEMIE AU COURS D'UN LYMPHOME

Présentée et soutenue publiquement le **25/09/18** devant un jury composé de :

Président du Jury :

Professeur Emmanuel GYAN, Hématologie, PU, Faculté de Médecine – Tours

Membres du Jury :

Professeur Olivier HERAULT, Hématologie, PU Faculté de Médecine – Tours

Professeur Claude LINASSIER, Oncologie, PU, Faculté de Médecine – Tours

Docteur Chantal BARIN-LE GUELLEC, Pharmacologie fondamentale, Pharmacologie clinique, MCU-PH, Faculté de Médecine – Tours

Directeur de thèse :

Docteur Marjan ERTAULT DE LA BRETONNIERE, Hématologie, PH, CHU – Tours

CARACTERISTIQUES ET IMPACT PRONOSTIC DE LA SURVENUE D'UNE HYPERCALCEMIE AU COURS D'UN LYMPHOME

Résumé :

Contexte : Les caractéristiques et le devenir des patients atteints d'un lymphome avec hypercalcémie n'ont pas été comparés à une cohorte de lymphomes sans hypercalcémie.

Méthodes : Après exclusion des causes non spécifiques d'hypercalcémie, les patients suivis à Tours pour un lymphome compliqué d'une hypercalcémie entre 2000 et 2016 ont été sélectionnés. Ils ont été comparés à une cohorte appariée pour l'histologie et les principaux facteurs influençant le pronostic du lymphome.

Résultats : Parmi les 4305 patients atteints d'un lymphome, 62 sont inclus dans la cohorte d'hypercalcémie et 118 patients comparables sont inclus dans la cohorte de contrôle. L'hypercalcémie est observée principalement au diagnostic (71%) chez des patients au pronostic défavorable : lymphome de haut grade (77%) ; stade disséminé (92%). Les lymphomes B diffus à grandes cellules (LBDGC) et folliculaires (LF) sont les principales histologies (68% et 13%, respectivement). La survie globale (SG) à 2 ans est de 41% [intervalle de confiance à 95% (IC)=28-53] et de 78% (IC=70-85) dans le groupe d'hypercalcémie et de contrôle, respectivement ($p < 10^{-3}$). Cette différence en SG est notée dans les sous-groupes de LBDGC [38% (IC=23-52) contre 76% (IC=67-85)] et FL [33% (IC=0-71) contre 83% (IC=54-100)]. La survie sans progression à 2 ans est significativement plus courte dans la cohorte d'hypercalcémie par rapport à la cohorte de contrôle. La survenue d'une hypercalcémie est associée à une augmentation du risque de mortalité en analyse multivariée (HR=3,85, $p < 10^{-3}$).

Conclusion : L'hypercalcémie survient au cours des lymphomes à haut risque et est associée à une élévation du risque de progression et de mortalité.

Mots-clefs : hypercalcémie, lymphome, facteur pronostic

CHARACTERISTICS AND PROGNOSIS IMPACT OF HYPERCALCEMIA IN LYMPHOMA

Abstract:

Background: Outcome of lymphoma-associated hypercalcemia has not yet been compared to the outcome of non hypercalcemic lymphomas.

Methods: After excluding other causes of hypercalcemia, patients diagnosed with any subtype of lymphoma who experienced at least one hypercalcemia between 2000 and 2016 were included. These patients were compared to a matched, for histologies and prognosis factors, control cohort.

Results: In our institution, among 4305 medical records of lymphoma, 62 and 118 comparable patients for matching parameters were included in hypercalcemia and control cohorts, respectively. Hypercalcemia was found mainly at diagnosis (71%) in already poor prognosis patients: high grade lymphomas (77.4%); extended stages (91.9%); elevated LDH (90.3%). Diffuse large B-cell lymphomas (DLBCL) and follicular lymphomas (FL) were found in 67.7% and 11.3% patients, respectively. Two-year overall survival (OS) was 40.6% [95% confidence interval (95%CI)=28.1-53.1] and 77.7% (95%CI=70.1-85.3) in hypercalcemia and control cohorts, respectively ($p < 10^{-3}$). This difference in OS was also found in DLBCL and FL subgroups ($p < 10^{-3}$ and $p = 0.001$). Two-year progression free survival was shorter in hypercalcemia than in control cohort, 30.1% (95%CI=18.3-41.9) vs. 63.9% (95%CI=55.1-72.7), respectively ($p < 10^{-3}$). Hypercalcemia was independently associated with poor survival in multivariate analysis (HR=3.85, $p < 10^{-3}$).

Conclusions: Though hypercalcemia mainly occurs in high risk lymphomas, it was independently associated with increased risk of mortality.

Keywords: hypercalcemia, lymphoma, prognosis factor

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Pr. Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Pr. Henri MARRET

ASSESSEURS

Pr. Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*
Pr. Mathias BUCHLER, *Relations internationales*
Pr. Hubert LARDY, *Moyens – relations avec l'Université*
Pr. Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale*
Pr. François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*
Pr. Patrick VOURC'H, *Recherche*

SECRETAIRE GENERALE

Mme Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Pr. Emile ARON (†) – 1962-1966
Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962
Pr. Georges DESBUQUOIS (†) - 1966-1972
Pr. André GOUAZE - 1972-1994
Pr. Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004
Pr. Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Pr. Daniel ALISON
Pr. Catherine BARTHELEMY
Pr. Philippe BOUGNOUX
Pr. Pierre COSNAY
Pr. Etienne DANQUECHIN-DORVAL
Pr. Loïc DE LA LANDE DE CALAN
Pr. Noël HUTEN
Pr. Olivier LE FLOCH
Pr. Yvon LEBRANCHU
Pr. Elisabeth LECA
Pr. Gérard LORETTE
Pr. Roland QUENTIN
Pr. Alain ROBIER
Pr. Elie SALIBA

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – G. BALLON – P. BARDOS – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – P. BONNET – M. BROCHIER – P. BURDIN – L. CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – C. COUET – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUAZE – J.L. GUILMOT – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – J. LAUGIER – P. LECOMTE – G. LELORD – E. LEMARIE – G. LEROY – Y. LHUINTRE – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAINÉ – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – M. ROBERT – J.C. ROLLAND – D. ROYERE – A. SAINDELLE – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – B. TOUMIEUX – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRES Christian	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
ARBEILLE Philippe	Biophysique et médecine nucléaire
AUPART Michel	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique	Cardiologie
BALLON Nicolas	Psychiatrie ; addictologie
BARILLOT Isabelle	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe	Immunologie
BEJAN-ANGOULVANT Théodora	Pharmacologie clinique
BERNARD Anne	Cardiologie
BERNARD Louis	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BODY Gilles	Gynécologie et obstétrique
BONNARD Christian	Chirurgie infantile
BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
BRILHAULT Jean	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck	Urologie
BUCHLER Matthias	Néphrologie
CALAIS Gilles	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent	Psychiatrie d'adultes
CHANDENIER Jacques	Parasitologie, mycologie
CHANTEPIE Alain	Pédiatrie
COLOMBAT Philippe	Hématologie, transfusion
CORCIA Philippe	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et imagerie médicale
DE TOFFOL Bertrand	Neurologie
DEQUIN Pierre-François	Thérapeutique
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DIOT Patrice	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
DUMONT Pascal	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
EL HAGE Wissam	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan	Réanimation
FAUCHIER Laurent	Cardiologie
FAVARD Luc	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUQUET Bernard	Médecine physique et de réadaptation
FRANCOIS Patrick	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle	Anatomie & cytologie pathologiques
GOGA Dominique	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
GOUDEAU Alain	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
GRUEL Yves	Hématologie, transfusion
GUERIF Fabrice	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUYETANT Serge	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel	Hématologie, transfusion
HAILLOT Olivier	Urologie
HALIMI Jean-Michel	Thérapeutique
HANKARD Régis	Pédiatrie
HERAULT Olivier	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis	Radiologie et imagerie médicale
HOURIOUX Christophe	Biologie cellulaire
LABARTHE François	Pédiatrie
LAFFON Marc	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique	Bactériologie-virologie
LAURE Boris	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry	Gastroentérologie, hépatologie
LESCANNE Emmanuel	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie
MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel	Dermatologie-vénéréologie
MEREGETTI Laurent	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie

MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis	Rhumatologie
ODENT Thierry	Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna	Gynécologie-obstétrique
PAGES Jean-Christophe	Biochimie et biologie moléculaire
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Dominique	Réanimation médicale, médecine d'urgence
PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean	Ophtalmologie
PLANTIER Laurent	Physiologie
QUENTIN Roland	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
REMERAND Francis	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénéréologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et médecine nucléaire
SIRINELLI Dominique	Radiologie et imagerie médicale
THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
VAILLANT Loïc	Dermato-vénéréologie
VELUT Stéphane	Anatomie
VOURC'H Patrick	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé	Immunologie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

LEBEAU Jean-Pierre
LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donatien.....Soins palliatifs
POTIER Alain.....Médecine Générale
ROBERT Jean.....Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

BAKHOS David	Physiologie
BARBIER Louise	Chirurgie digestive
BERHOUE Julien	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BERTRAND Philippe	Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication
BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle	Biologie cellulaire
BLASCO Hélène	Biochimie et biologie moléculaire
BRUNAULT Paul	Psychiatrie d'adultes, addictologie
CAILLE Agnès	Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication
CLEMENTY Nicolas	Cardiologie
DESOUBEUX Guillaume	Parasitologie et mycologie
DOMELIER Anne-Sophie	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOUR Diane	Biophysique et médecine nucléaire
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie	Anatomie et cytologie pathologiques
GATAULT Philippe	Néphrologie
GAUDY-GRAFFIN Catherine	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUILLEUX Valérie	Immunologie
GUILLON Antoine	Réanimation
GUILLON-GRAMMATICO Leslie	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
HOARAU Cyrille	Immunologie
IVANES Fabrice	Physiologie
LE GUELLEC Chantal	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
MACHET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
PIVER Eric	Biochimie et biologie moléculaire
REROLLE Camille	Médecine légale
ROUMY Jérôme	Biophysique et médecine nucléaire
TERNANT David	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique

ZEMMOURA IlyessNeurochirurgie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ NadiaNeurosciences
BOREL StéphanieOrthophonie
DIBAO-DINA ClarisseMédecine Générale
LEMOINE MaëlPhilosophie
MONJAUZE CécileSciences du langage - orthophonie
PATIENT RomualdBiologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile.....Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

BOUAKAZ AyacheDirecteur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
CHALON Sylvie.....Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
COURTY YvesChargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
DE ROCQUIGNY Hugues.....Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
ESCOFFRE Jean-MichelChargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
GILOT Philippe.....Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GUILLEUX Fabrice.....Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
GOMOT Marie.....Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
HEUZE-VOURCH NathalieChargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
KORKMAZ BriceChargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
LAUMONNIER FrédéricChargé de Recherche INSERM - UMR INSERM 930
LE PAPE AlainDirecteur de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
MAZURIER FrédéricDirecteur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
MEUNIER Jean-ChristopheChargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
PAGET Christophe.....Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
RAOUL WilliamChargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
SI TAHAR Mustapha.....Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
WARDAK Claire.....Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

DELORE ClaireOrthophoniste
GOUIN Jean-MariePraticien Hospitalier
PERRIER DanièleOrthophoniste

Pour l'Ecole d'Orthoptie

LALA EmmanuellePraticien Hospitalier
MAJZOUB Samuel.....Praticien Hospitalier

Pour l'Ethique Médicale

BIRMELE BéatricePraticien Hospitalier

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

REMERCIEMENTS :

Au Président du Jury, Monsieur le Professeur Emmanuel GYAN :

Vous me faites l'honneur de présider ce Jury et d'évaluer ce travail. Merci pour vos conseils qui ont enrichi mes réflexions et ma pratique de la médecine et de la recherche. Depuis le début de mon internat, vous m'avez fait confiance et confié des projets ambitieux, je vous en remercie. Votre sincérité et votre souhait de respecter les projets de chacun sont une source d'inspiration. Je serais honoré et heureux que notre compagnonnage se poursuive.

A ma Directrice de Thèse, Madame le Docteur Marjan ERTAULT DE LA BRETONNIERE :

Merci d'avoir accepté de m'aider à forger ce travail. Merci pour la pertinence de tes remarques et la justesse de tes corrections qui m'ont permis de progresser et d'améliorer ce travail. Merci pour ton énergie et bien sûr pour ton franc-parler. J'espère que tu as pris autant de plaisir que moi à explorer le métabolisme du calcium et que le résultat final est à la hauteur de tes attentes.

A Monsieur le Professeur Olivier HERAULT :

Vous me faites l'honneur d'apporter votre expérience à la critique de ce travail en siégeant dans ce Jury. Merci de m'avoir accueilli au sein de votre équipe de recherche, une expérience essentielle qui a confirmé mon attrait pour la recherche fondamentale. Je vous prie de bien vouloir accepter ma respectueuse considération.

A Monsieur le Professeur Claude LINASSIER :

Je suis honoré que vous puissiez juger ce travail et apporter votre expertise à cette recherche. Merci du temps que vous avez pris pour évaluer et juger ce travail.

A Madame le Docteur Chantal BARIN-LE GUELLEC :

Je vous suis reconnaissant d'avoir accepté de participer au Jury de soutenance de ma thèse. Votre expertise est essentielle à l'évaluation de ce travail et je vous remercie du temps que vous accorderez pour évaluer et juger ce travail.

~

Au Professeur Bruno FAUTREL, au Docteur Claude BACHMEYER et au Docteur Francesco SANTOLI (et son équipe) : je vous remercie d'avoir été ces premiers maîtres qui ont su aiguïser ma curiosité et affûter mon esprit critique.

A l'équipe d'Hématologie de Bourges et Orléans : merci pour votre bienveillance et vos enseignements qui m'ont appris les bases de la spécialité que je m'appête à exercer.

A l'équipe de Néphrologie de Bourges, Edward, Firas, Alain, Khair : merci de m'avoir accueilli et de m'avoir accordé votre confiance. Vous avez éveillé le néphrologue qui sommeillait en moi.

A l'équipe d'Hématologie et Thérapie Cellulaire du CHRU de Tours, Monsieur le Professeur Colombat, Caroline, Lotfi, Irène, Laurence, Julies, Mélanie/Méloche, Manons, Paulines, Claire, Florence, Annabelle, Myriam, Estelle, Justine et bien d'autres : vous m'avez accueilli au sein de votre équipe, partager ce lieu de vie avec vous est un plaisir, je vous en remercie.

A l'équipe de l'UMASP du CHRU de Tours, François, Sophie, Bribri, Cati Bitou, Sandrine, Sophie, Patricia : merci pour ces 6 mois pouvant être représentés par un cocktail parfaitement équilibré de partage, de rencontres, de bébés animaux mignons et d'enseignement. Merci de m'avoir applaudi en staff le jour où je ne me souvenais plus du nom des « x » lignes thérapeutiques administrées à cette patiente rencontrée la veille !

A toute l'équipe du LICT de l'EFS : merci pour ce semestre exceptionnel et riche en rebondissement, ANSM oblige ! Merci à Vincent d'avoir laissé s'épanouir mes questionnements statistiques et scientifiques.

Aux Professeurs Régis PEFFAULT DE LATOUR et Patricia AGUILAR-MARTINEZ : merci pour ces rencontres scientifiques et vos encadrements qui m'ont fait découvrir de nouvelles thématiques.

A l'ensemble des soignants que je n'ai pas cité et qui m'ont aidé à progresser et à m'épanouir dans l'exercice de la médecine.

~

A mes co-internes d'Hématologie, Laurianne¹, Thomas, Antoine, Martin, Justine, Sami et Maxime : merci pour les semestres que j'ai eu la chance de partager avec certains d'entre vous. Merci de m'accorder votre confiance pour vous représenter et merci de supporter mes mails incessants.

A Jean-Baptiste : merci pour la pertinence de tes remarques qui ont nettement aidé à l'amélioration de ce travail. Merci pour nos discussions : le grand écart improbable entre Benzaïe et Benjamini Hochberg !

Aux thésards de LNOx (Margaux, Marie, Amélie, Farah, Elodie, Maya), à Nathalie, Sophie, Elfi, Jérôme et Frédéric : passer près d'une année avec vous a été un plaisir et une richesse.

~

A mes parents : maman, papa, vous m'avez encouragé, suivi, supporté, compris et soutenu depuis mon plus jeune âge. Tous les mercis ne seront jamais suffisants.

A Rémi : merci pour tous ces moments de complicité partagés entre frères. Merci de m'avoir mis tôt devant un ordinateur et de m'avoir enseigné son fonctionnement (si si je suis sincère !). Bien que les études de médecine ne soient pas évidentes à suivre, tu as su y porter de l'intérêt et suivre mon parcours et je t'en remercie. Ne t'inquiète pas, bientôt, je ne serai plus étudiant. Enfin... Peut-être !

A Benjamin : depuis la maternelle nous avons parcouru des chemins parfois proches, parfois plus éloignés par la force des choses et tu as toujours été là. Pour ton amitié sincère et simple depuis ces longues années je te remercie du fond du cœur.

A Alban : merci pour ces moments partagés depuis notre rencontre dans cet hôtel de Rouen au nom imprononçable par le commun des mortels. A ces dictées qui m'ont parues moins longues une fois ponctuées par l'arrivée d'hélicoptères, de chevaux au trot ou de canards (pan pan !). Merci pour ton amitié sincère. Je suis impatient de te rejoindre pour de nouvelles aventures tourangelles Villate-Vallet !

A ma belle-famille : pour m'avoir fait une place parmi vous, pour votre infinie générosité et votre énergie, je vous remercie sincèrement.

A Emilie : un coup de foudre inoubliable s'est abattu sur Bourges en hiver 2013, nous ne nous sommes plus quittés depuis. Devenir ton mari aura sans doute été une des décisions les plus simples de ma vie tant la partager avec toi est une évidence. Merci pour ton amour, ta présence, tes encouragements, ton soutien et pour ta compréhension.

~

Enfin, merci à tous ceux que je n'ai pas cités et qui ont participé de près ou de loin à mon parcours. J'espère que vous ne serez pas vexés par cet oubli, auquel cas je vous prie de m'excuser.

¹Bien que tu sois chef maintenant !

ABBREVIATIONS

25(OH)D	25-hydroxvitamine D
AMPc	3',5-monophosphate cyclique
ASCT	Chimiothérapie intensive et autogreffe de CSH
ATLL	Leucémie/lymphome à cellule T de l'adulte
BCR	<i>B-cell receptor</i>
BLAH	Branche large ascendante de Henle
BTK	<i>Bruton's tyrosine kinase</i>
CaSR	Récepteur au calcium ionisé
cCa	Calcium/Calcémie corrigée
CRP	Protéine C réactive
CSH	Cellules souches hématopoïétiques
CYP24A1	24-hydroxylase
CYP27A1	25-hydroxylase
CYP27B1	1-alpha-hydroxylase
DKK1	Dickkopf1
FGF	<i>Fibroblast growth factor</i>
HR	<i>Hazard ratio</i>
HRS	Cellules de Hodgkin et Reed-Sternberg
IC95%	Intervalle de confiance à 95%
iCa	Calcium/Calcémie ionisée
IFN	Interféron
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
ITT	Intention de traiter
L&H	Cellules lymphocytiques et histiocytiques
LBDGC	Lymphome B diffus à grande cellules
LF	Lymphome folliculaire
LH	Lymphome de Hodgkin
LNH	Lymphome non Hodgkinien
MIP	<i>Macrophage inflammatory protein</i>
MM	Myélome multiple
NK	<i>Natural killer</i>
OPG	Ostéoprotégérine
PP	<i>Per protocol</i>
PTH1R	Récepteur à la PTH
PTHi	Hormone parathyroïdienne intacte
PTHrP	<i>Parathryoid hormone-related protein</i>
RANK	Récepteur au NF-κB
RANKL	Ligand du récepteur au NF-κB
SG	Survie globale
SNC	Système nerveux central
SSP	Survie sans progression
tCa	Calcium/Calcémie totale
TGF	<i>Transforming growth factor</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
TRPV	<i>Transient receptor potential vanilloid type</i>
VDR	Récepteur à la vitamine D

TABLE DES MATIERES

Abréviations	12
Table des figures	18
Table des tableaux	20
1. Introduction	21
1.1. Les lymphomes : classification et physiopathologie	21
1.1.1. Classification des lymphomes	21
1.1.2. Prévalence des sous-types de lymphomes	21
1.1.3. Origine des cellules tumorales.....	21
1.1.3.1. Lymphomes non-Hodgkiniens à cellules B	21
1.1.3.2. Lymphomes non-Hodgkiniens à cellules T	23
1.1.3.3. Lymphomes de Hodgkin.....	23
1.1.4. Microenvironnement	23
1.2. Scores et facteurs prédictifs du devenir des patients suivis pour un lymphome	25
1.2.1. Scores et facteurs prédictifs de la survie au cours des LNH	25
1.2.2. Scores prédictifs de la survie au cours des LH.....	26
1.2.3. Atteintes d'organe prédictives de la survie au cours des lymphomes	26
1.2.4. Mutations somatiques prédictives de la survie au cours des LNH.....	26
1.3. Cas clinique	27
1.4. Problématiques	28
1.5. Métabolisme du calcium chez l'Homme.....	29
1.5.1. Répartition du calcium au sein de l'organisme	29
1.5.2. L'os est le compartiment de stockage du calcium.....	29
1.5.3. Le calcium total circulant	30
1.5.4. Fonctions du calcium circulant.....	30
1.6. Mécanismes de régulation de l'homéostasie du calcium	31
1.6.1. Variable régulée et son récepteur : iCa et calcium-ion-sensing receptor	33
1.6.2. Conséquences de la liaison du iCa au CaSR	34

1.6.3.	Premier signal : l'hormone parathyroïdienne intacte	35
1.6.4.	Second signal, voie indirecte de la PTH : le calcitriol	35
1.6.5.	Autres protéines pouvant influencer le métabolisme calcique	37
1.6.5.1.	Les parathormone-related proteins (PTHrP).....	37
1.6.5.2.	FGF23	38
1.6.5.3.	Macrophages stimulés par l'IFN γ et synthèse de calcitriol	38
1.7.	Diagnostic et explorations d'une hypercalcémie.....	38
1.7.1.	Retentissement clinique de l'hypercalcémie	38
1.7.2.	Le diagnostic d'hypercalcémie est un diagnostic biologique.....	39
1.7.3.	Précautions d'interprétation du dosage du calcium total plasmatique	39
1.7.4.	Explorations biologiques à visée étiologique en cas de survenue d'une hypercalcémie maligne.....	41
1.8.	Physiopathologie de l'hypercalcémie au cours des lymphomes	44
1.8.1.	Hypercalcémie maligne par mécanisme d'ostéorésorption.....	46
1.8.1.1.	Différenciation et activation des ostéoclastes associées à une augmentation de l'expression de RANKL	46
1.8.1.2.	Cytokines pouvant influencer la différenciation et l'activation des ostéoclastes.....	47
1.8.1.2.1.	Macrophage inflammatory protein 1	47
1.8.1.2.2.	IL-6 et TNF α	48
1.8.1.2.3.	TGF β	48
1.8.1.2.4.	IL-1	49
1.8.1.3.	Rôle des ostéoblastes : déséquilibre du ratio OPG/RANKL.....	49
1.8.2.	Hypercalcémie maligne « humorale » par synthèse de PTHrP	50
1.8.2.1.	Fréquence de l'association entre l'hypercalcémie lymphomateuse et détection de PTHrP	50
1.8.2.2.	Hypercalcémie liée à l'ostéorésorption médiée par les PTHrP.....	50
1.8.2.3.	Hypercalcémie liée à la réabsorption rénale du calcium médiée par les PTHrP	51

1.8.2.4.	Les PTHrP n'induisent pas d'augmentation du calcitriol	51
1.8.3.	Hypercalcémie maligne par synthèse extra-rénale de calcitriol	51
1.8.3.1.	Fréquence d'association entre hypercalcémie lymphomateuse et élévation du calcitriol	51
1.8.3.2.	Site extra-rénal de production de CYP27B1 au cours du lymphome	51
1.9.	Caractéristiques des patients atteints de lymphome lors de la survenue d'une hypercalcémie maligne.....	52
1.9.1.	Fréquence et incidence de la survenue d'une hypercalcémie maligne au cours d'un lymphome	52
1.9.2.	Caractéristiques des patients présentant une hypercalcémie au cours d'un lymphome.....	53
1.9.2.1.	Histologies associées à la survenue d'une hypercalcémie	53
1.9.2.2.	Extension de l'hémapathie au diagnostic d'hypercalcémie	54
1.9.2.2.1.	Stade Ann-Arbor.....	54
1.9.2.2.2.	Atteinte osseuse associée à l'hypercalcémie	54
1.9.2.3.	Ligne thérapeutique associée à la survenue d'une hypercalcémie.....	55
1.10.	Traitement spécifique de l'hypercalcémie maligne.....	55
1.11.	Impact pronostic de l'hypercalcémie dans le lymphome	55
2.	Objectifs	57
3.	Méthodologie suivie	57
4.	Etude rétrospective au CHRU de Tours	58
4.1.	Méthode.....	58
4.1.1.	Définition de l'hypercalcémie	58
4.1.2.	Sélection de la cohorte d'hypercalcémie et de la cohorte de contrôle	58
4.1.3.	Données collectées	58
4.1.3.1.	Caractéristiques cliniques et radiologiques.....	58
4.1.3.2.	Caractéristiques biologiques	59
4.1.3.3.	Traitements reçus	59
4.1.3.4.	Devenir.....	59

4.1.3.5.	Evaluation du score pronostic	59
4.1.4.	Analyse statistique.....	59
4.1.5.	Soumission du projet au groupe éthique d'aide à la recherche clinique	60
4.2.	Résultats	60
4.2.1.	Identification des patients inclus dans l'étude rétrospective	60
4.2.2.	Caractéristiques de la population étudiée	61
4.2.3.	Caractéristiques biologiques à l'inclusion.....	64
4.2.4.	Complications et traitements de l'hypercalcémie	65
4.2.5.	Analyse de la survie globale.....	66
4.2.6.	Cause de mortalité	67
4.2.7.	Analyse de survie sans progression.....	68
4.2.8.	Survie après intensification et autogreffe de CSH	69
4.2.9.	Etude univariée et multivariée des facteurs prédictifs de mortalité	72
5.	Etude d'une cohorte de cas rapportés publiés	75
5.1.	Méthodes	75
5.2.	Résultats	75
5.2.1.	Identification des cas rapportés d'hypercalcémie au cours d'un lymphome.....	75
5.2.2.	Caractéristiques de la population issue de la littérature	75
5.2.3.	Devenir de la cohorte des cas publiés	77
6.	Discussion	79
6.1.	Caractéristiques de la cohorte d'hypercalcémie.....	79
6.2.	Devenir des patients inclus dans l'étude rétrospective.....	80
6.3.	Impact de l'intensification et ASCT	81
6.4.	Physiopathologie de l'hypercalcémie.....	82
6.5.	Hypothèses des mécanismes physiopathologiques pouvant expliquer l'impact pronostic de l'hypercalcémie.....	82
6.5.1.	Calcitriol et immunosuppression.....	82
6.5.2.	MIP1a	82

6.5.3.	RANKL	83
6.5.4.	Microenvironnement tumoral osseux.....	83
7.	Conclusions	84
8.	Références	85
9.	Annexes	98
9.1.	Définition de l'hypercalcémie selon les publications.....	98
9.2.	Classification de Ann Arbor.....	99
9.3.	Scores de prévision du pronostic utilisés lors de l'étude rétrospective	100
9.3.1.	Score IPI.....	100
9.3.2.	Score FLIPI	100
9.3.3.	Score de Hasenclever	100
9.4.	Références des cas publiés utilisés pour la revue de la littérature.....	101
9.5.	Avis du groupe éthique d'aide à la recherche clinique	103

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique de l'origine des cellules lymphomateuses d'après Küppers et al.....	22
Figure 2 : Représentation schématique des trois types d'organisation du microenvironnement tumoral au cours des lymphomes d'après Scott et Gascoyne.....	24
Figure 3 : TEP-TDM à l'admission pour hypercalcémie d'une patiente de 65 ans suivie pour un lymphome de la zone marginale splénique en rémission complète depuis 10 ans.....	28
Figure 4 : Différenciation et activation des ostéoclastes en fonction du ratio RANKL/OPG.....	30
Figure 5 : Représentation schématique des formes constituant le calcium total circulant.	31
Figure 6 : Mécanismes impliqués dans la régulation de l'homéostasie du calcium chez l'homme.....	32
Figure 7 : Localisation de l'expression du <i>calcium sensing receptor</i> . parathyroïdienne.....	34
Figure 8 : Différentes transformations du 7-déhydrocholestérol avant la synthèse de vitamine D active.....	36
Figure 9 : Représentation schématique des variations de calcium ionisé en fonction du pH.....	40
Figure 10 : Représentation schématique de l'influence des variations d'albuminémie et de pH plasmatique sur les résultats du dosage de la calcémie totale mesurée par rapport à la calcémie ionisée et la calcémie corrigée.....	41
Figure 11 : Orientation diagnostique devant une hypercalcémie.....	42
Figure 12 : Mécanismes responsables d'une hypercalcémie maligne.....	45
Figure 13 : Différents mécanismes locaux qui pourraient favoriser l'ostéorésorption au cours du cancer.....	46
Figure 14 : Diagramme de flux des inclusions dans l'étude rétrospective.....	61
Figure 15 : Survie globale à partir de l'inclusion des patients dans les cohortes de contrôle et d'hypercalcémie.....	66
Figure 16 : Survie globale à partir de l'inclusion des patients dans les cohortes de contrôle et d'hypercalcémie dans les sous-groupes de lignes thérapeutiques à l'inclusion.....	67

Figure 17 : Survie globale à partir de l'inclusion des patients dans les cohortes de contrôle et d'hypercalcémie dans les sous-groupes histologiques.....	68
Figure 18 : Survie sans progression de l'ensemble des patients inclus dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle.....	69
Figure 19 : Survie globale à partir de l'inclusion des patients éligibles et ayant reçu une intensification et autogreffe de cellules souches hématopoïétiques inclus dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle.....	71
Figure 20 : Incidence cumulative de rechute ajustée au risque de décès par la méthode de Fine and Gray.....	72
Figure 21 : Diagramme de flux des inclusions des cas rapportés d'hypercalcémie survenant au cours d'un lymphome.....	76
Figure 22 : Survie globale à partir de l'inclusion de la cohorte de cas rapportés de lymphomes avec hypercalcémie maligne dans la littérature entre 1996 et 2016.....	78

TABLE DES TABLEAUX

Tableau I : Résultats du bilan du métabolisme calcique de la patiente suivie pour un lymphome de la zone marginale.....	28
Tableau II : Synthèse des acteurs impliqués dans la régulation du métabolisme calcique.....	33
Tableau III : Caractéristiques biologiques orientant vers un mécanisme physiopathologique responsable d'une hypercalcémie maligne.....	43
Tableau IV : Synthèse des articles rapportant la fréquence de l'hypercalcémie au cours de la prise en charge d'un lymphome.....	52
Tableau V : Synthèse des données issues des publications concernant la fréquence des différentes histologies lors de la survenue d'une hypercalcémie au cours d'un lymphome non-Hodgkinien.....	54
Tableau VI : Synthèse des données issues des publications concernant l'extension lymphomateuse selon la classification de Ann Arbor lors de la survenue d'une hypercalcémie au cours d'un lymphome.....	55
Tableau VII : Synthèse des données issues des publications concernant la survie globale après la survenue d'une hypercalcémie au cours d'un lymphome.....	56
Tableau VIII : Caractéristiques principales des deux cohortes de l'étude rétrospective.	62
Tableau IX : Caractéristiques de l'envahissement extra-ganglionnaire des patients inclus dans l'étude rétrospective.....	63
Tableau X : Traitements spécifiques administrés aux patients des 2 cohortes de l'étude rétrospective.....	64
Tableau XI : Caractéristiques biologiques des patients inclus dans les deux cohortes.	65
Tableau XII : Cause de décès dans les deux cohortes de l'étude rétrospective. AVC : accident vasculaire cérébral. aL'analyse statistique a comparé les causes de décès liées au lymphome à l'ensemble des autres causes de mortalité.	68
Tableau XIII : Caractéristiques des patients inclus dans l'analyse d'intensification et autogreffe de cellules souches hématopoïétiques.....	70
Tableau XIV : Analyse de régression logistique selon la méthode de Cox, univariée et multivariée sur l'ensemble de la population.....	73
Tableau XV : Analyse de régression logistique selon la méthode de Cox, univariée et multivariée sur la population au diagnostic.....	74
Tableau XVI : Caractéristiques des cas rapportés de lymphomes avec hypercalcémie maligne.....	77

1. INTRODUCTION

1.1. Les lymphomes : classification et physiopathologie

1.1.1. Classification des lymphomes

Le terme lymphome désigne un ensemble d'hémopathies malignes lymphoïdes matures distinguées par leurs présentations cliniques, histologiques et des altérations génomiques acquises. Les lymphomes de Hodgkin (LH) se distinguent des lymphomes de type non-Hodgkinien (LNH) par la prédominance de cellules de l'environnement tumoral et la détection de cellules de Reed-Sternberg (HRS) au sein du tissu tumoral. Les LNH incluent des lymphomes issus des lymphocytes B et T, dont la classification dépend de l'origine de la cellule lymphomateuse.¹

Outre la classification histologique, les lymphomes peuvent être classés en lymphome de haut grade et de bas grade selon leurs modalités d'évolution clinique et de réponse thérapeutique. Les exemples typiques de lymphomes de haut grade et de bas grade sont le lymphome de Burkitt et le lymphome folliculaire (LF), respectivement.¹ L'histoire naturelle des lymphomes de bas grade est caractérisée par le risque de transformation en lymphome de haut grade. Cette transformation est un tournant évolutif du lymphome associé à une diminution significative de la survie.²

1.1.2. Prévalence des sous-types de lymphomes

Tout âge confondu, les LNH sont plus fréquents que les LH (85,6% contre 14,4%). L'âge médian au diagnostic d'un LNH est de 70 ans. Parmi les LNH de type B, les lymphomes B diffus à grandes cellules (LBDGC) puis les LF et les lymphomes de la zone marginale (LZM) sont les plus fréquemment diagnostiqués avec une fréquence de 41%, 16% à 20% et 10 à 17%, respectivement. Les LH sont plus fréquemment diagnostiqués entre 15 et 39 ans avec deux pics de fréquence autour de 20 ans puis 70 ans.^{3,4}

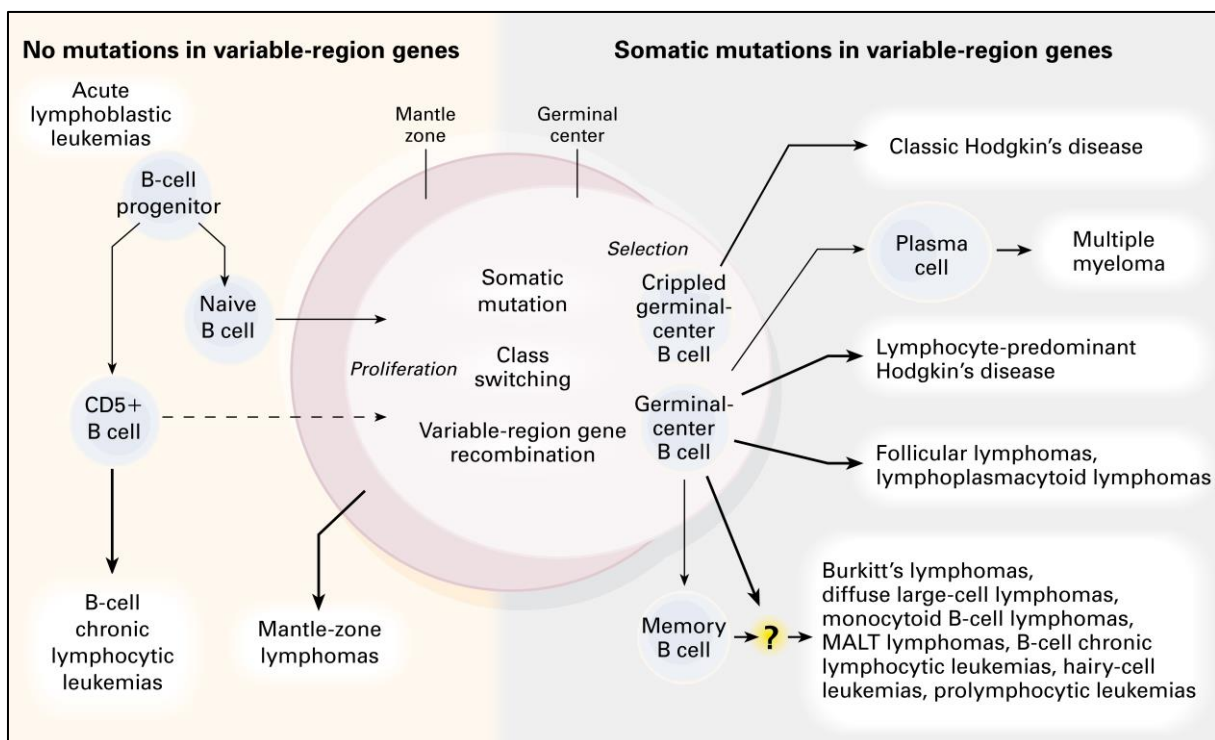
1.1.3. Origine des cellules tumorales

1.1.3.1. Lymphomes non-Hodgkiniens à cellules B

Le rationnel de la classification des LNH B repose sur l'observation que les cellules lymphomateuses ressemblent à des lymphocytes B naïfs matures, bloqués à un stade de leur différenciation qui reflète la cellule d'origine.

Le lymphocyte B naïf est une cellule mature, issue de la différenciation des progéniteurs lymphoïdes, exprimant un *B-cell receptor* (BCR) fonctionnel. Cette cellule mature, issue de la

Le dysfonctionnement d'une de ces étapes peut entraîner le gain de survie d'un clone permettant la prolifération sans contrôle.⁴ L'étape de blocage de différenciation peut être objectivée par l'étude de l'expression de marqueurs de différenciation (**Figure 1**).⁵



Des anomalies des gènes impliqués dans la signalisation du BCR sont fréquemment observées dans les LNH B.⁴ La translocation réciproque d'un proto-oncogène avec un des *loci* du gène de l'immunoglobuline (Ig) est caractéristique de sous-types de LNH B. Par exemple, 80% des LF sont associés à une translocation t(14;18)(q32;q21) impliquant le gène de l'Ig et celui de BCL2 (anti-apoptotique) sur les chromosomes 14 et 18 respectivement. D'autres gènes peuvent être impliqués tels que celui de la cycline D1 ou de MYC au cours des lymphomes à cellule du manteau (LCM) et des lymphomes de Burkitt, respectivement.¹ Indépendamment de l'Ig,

d'autres gènes, tels que celui de BCL6 et CD95, peuvent être mutés ou transloqués au moment de la commutation isotypique ou des hypermutations somatiques.⁴

Outre les mutations ou les translocations impliquant les gènes des Ig, des mutations somatiques récurrentes impliquant d'autres gènes ont été identifiées par *next generation sequencing*. Dans le cadre du LBDGC, la fréquence de la détection des mutations somatiques est caractéristique des sous-types de LBDGC (centro-germinatif ou non centro-germinatif). Cela illustre le rôle physiopathologique de la mutation de ces gènes.⁶

1.1.3.2. Lymphomes non-Hodgkiniens à cellules T

Les LNH T font partie du sous-ensemble d'hémopathies lymphoïdes chroniques à cellules T et natural killer (NK). Les LNH T les plus fréquents sont les LNH T nodulaires, anaplasiques.¹ Les LNH T sont la conséquence d'un dysfonctionnement du *T-cell receptor* responsable d'une signalisation cellulaire aberrante promouvant la prolifération et l'évasion du système immunitaire.⁷

1.1.3.3. Lymphomes de Hodgkin

Les LH classiques (95% des LH) sont caractérisés par la présence de HRS. Des HRS variantes, dites lymphocytiques et histocytiques (L&H) peuvent être observées en cas de LH nodulaire à prédominance lymphocytaire. Les HRS expriment des marqueurs de plusieurs lignées lymphocytaires (B et T). Les HRS et L&H sont issues de lymphocytes B et partagent des similitudes avec les lymphocytes B du centre germinatif. Les HRS et L&H sont porteuses de mutations somatiques des régions IgV, soit des mutations pouvant survenir au niveau de lymphocytes B du centre germinatif (**Figure 1**).⁸ Une activation constitutive de la voie NF-κB pourrait être responsable de la transformation des lymphocytes B matures en HRS ou L&H.⁹

1.1.4. Microenvironnement

La composition et l'organisation spatiale du microenvironnement tumoral sont associées au niveau de dépendance de la tumeur aux stimuli externes. Scott D et Gascoyne R.D. ont défini trois types d'organisation du microenvironnement.¹⁰

La rééducation est une architecture ressemblant à l'organisation physiologique ganglionnaire telle que l'organisation en nodules des LF rappelant les centres germinatifs riches en cellules dendritiques folliculaires et des lymphocytes T *follicular helpers*.¹⁰

Le recrutement est une architecture distincte du tissu lymphoïde normal, caractéristique du LH au sein duquel les cellules de Reed-Sternberg sont minoritaires.¹⁰

Enfin, l'effacement est caractéristique d'une destruction de l'architecture physiologique par la prolifération tumorale incontrôlée, notamment en cas de lymphome de Burkitt et de LBDGC (**Figure 2**).¹⁰

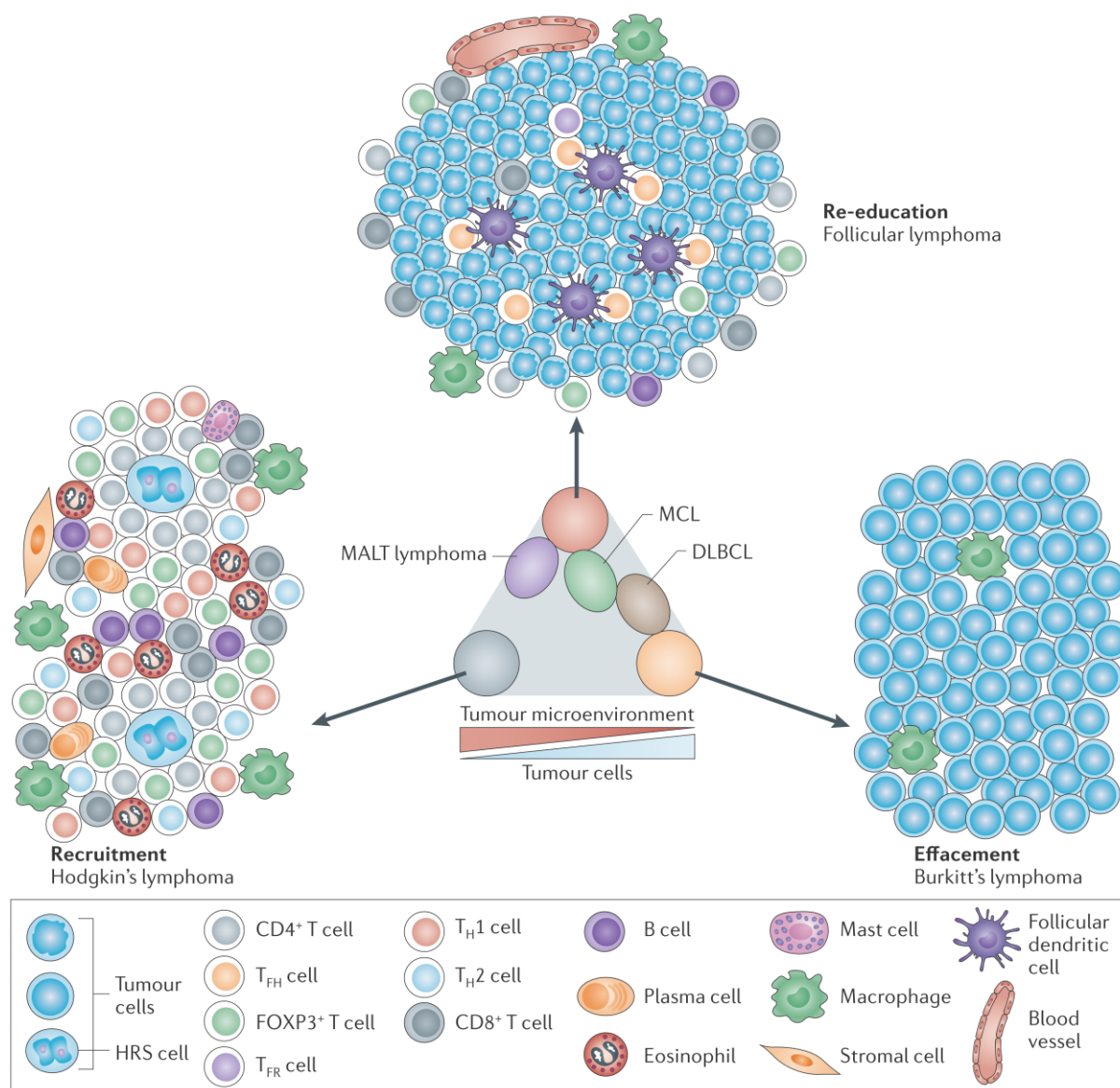


Figure 2 : Représentation schématique des trois types d'organisation du microenvironnement tumoral au cours des lymphomes d'après Scott et Gascoyne.¹⁰

Le microenvironnement tumoral peut influencer la prolifération tumorale. En culture avec le même milieu, les LBDGC ont un potentiel de clonogénicité plus élevé que les LF.¹¹ La clonogénicité de LF, de bas grade, peut être induite par un contact direct en co-culture avec des clones de lymphocytes T CD4⁺ issus du centre germinatif.¹²

L'échappement des cellules tumorales au système immunitaire favorise la prolifération tumorale. Il est observé dans les organisations de type rééducation et recrutement.¹⁰ L'expression du ligand du récepteur NKG2D sous forme soluble peut diminuer l'activation des

lymphocytes NK. L'expression du ligand du récepteur PD1 ou de la protéine LAG3 peut favoriser l'anergie T.¹³

1.2.Scores et facteurs prédictifs du devenir des patients suivis pour un lymphome

La stratégie thérapeutique des LNH et LH est guidée par l'agressivité du lymphome. Outre l'histologie (haut grade ou bas grade), un des principaux facteurs d'agressivité est l'extension tumorale au diagnostic (localisée ou disséminée) définie par la classification de Ann Arbor (ANNEXE 9.2).¹⁴

1.2.1. Scores et facteurs prédictifs de la survie au cours des LNH

Dans le cadre des LNH B de haut grade, le score *international prognosis index* (IPI) permet d'identifier différentes strates de patients à risque de rechute et de décès. Les facteurs prédictifs catégoriels inclus dans le modèle du score IPI sont l'âge, le taux de LDH, l'extension du LNH, le *performance status* (échelle clinique de classification de l'état général du patient) et le nombre d'aires ganglionnaires atteintes (ANNEXE 9.3).¹⁵ Bien que publié en 1993, le score IPI est toujours prédictif de la mortalité et de la progression à l'ère du Rituximab.¹⁶

Le score IPI est également prédictif de mortalité et de progression des LNH T périphériques.¹⁷

Parmi les LBDGC, d'autres facteurs marqueurs pronostics ont été identifiés. Les LBDGC dont la cellule d'origine est de type lymphocyte B activé sont associés à une plus courte survie comparée aux LBDGC issus des lymphocytes B du centre germinatif (GC).¹⁸ L'étude rétrospective du devenir de 124 patients atteints de LBDGC a montré un impact significatif de l'hypoalbuminémie sur la survie et la progression par études univariées et multivariées.¹⁹ L'association de l'hypoalbuminémie et du taux de plaquettes permet également de distinguer trois groupes à risque de mortalité.²⁰ Les marqueurs de l'inflammation tels que la CRP sont également décrits comme prédictifs de mortalité.^{21,22} La catégorie de LBDGC *double hit* ou *triple hit*, définie par la détection par hybridation *in situ* en fluorescence de réarrangement du gène codant pour MYC, est associée à une survie plus courte.²³

Le score IPI est prédictif de la SG au sein des populations de LNH B de bas grade et de stade disséminé.²⁴ Deux scores spécifiques au LF, le *follicular lymphoma IPI* (FLIPI) (ANNEXE 9.3) et FLIPI2 ont été développés et permettent de distinguer des strates à risque de mortalité et de progression.^{25,26} L'âge (<60 ans contre ≥60 ans), le taux de LDH et d'hémoglobine, l'extension du lymphome (localisé ou disséminé) et le nombre d'aires ganglionnaires sont des facteurs prédictifs de mortalité et sont inclus dans le score FLIPI.²⁵ Le

score FLIPI2 est composé de facteurs prédictifs de progression après première ligne thérapeutique : l'âge (<60 ans contre ≥ 60 ans), le taux de $\beta 2$ -microglobuline (élevé ou normal) et d'hémoglobine (<12 g/dL contre ≥ 12 g/dL), l'envahissement médullaire et la taille de la plus volumineuse adénopathie (<6 cm contre ≥ 6 cm).²⁶ A noter que pour les LF, la persistance d'une réponse complète à 30 mois de l'initiation du traitement d'induction est prédictif d'une meilleure survie sans progression (SSP).²⁷

L'IPI et le FLIPI permettent de distinguer les populations de patients atteints de lymphomes à cellules du manteau (LCM) de bas risque des population à haut risque de mortalité (IPI ou FLIPI ≥ 3). Cependant, le score *mantle cell lymphoma* IPI (MIPI) est plus performant. Ce score inclut l'âge, l'état général, le taux de LDH et de leucocytes.²⁸

1.2.2. Scores prédictifs de la survie au cours des LH

Le score de Hasenclever, calculé à partir de la concentration sérique d'albumine (sAlbumine) et d'hémoglobine, le sexe, le stade Ann Arbor, l'âge, le taux de leucocyte et de lymphocyte (**ANNEXE 9.3**), est prédictif de la survie et de la progression des LH disséminés.²⁹

Les LH localisés peuvent être stratifiés en catégories favorable et défavorable. Plusieurs scores pronostics ont été validés, notamment celui du groupe européen d'étude du cancer (ESMO) incluant l'élargissement médiastinal, les atteintes extra-nodales, l'atteinte splénique, la vitesse de sédimentation et l'âge.³⁰

1.2.3. Atteintes d'organe prédictives de la survie au cours des lymphomes

Les stades disséminés sont associés à une incidence de rechute et de mortalité supérieure.^{16,25,29} Certaines localisations lymphomateuses extra-ganglionnaires peuvent être des facteurs prédictifs indépendants de l'augmentation du risque de mortalité. Par exemple, dans le cadre des LBDGC : (i) l'atteinte du système nerveux central au diagnostic d'un LBDGC est associée à une médiane de SG entre 6 et 14 mois malgré intensification thérapeutique et autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH)^{31,32} ; (ii) les atteintes osseuses, médullaire et des gonades sont également des marqueurs prédictifs de mortalité.³³

1.2.4. Mutations somatiques prédictives de la survie au cours des LNH

Dans le cadre des LF, la prédiction du FLIPI peut être améliorée par le calcul du score m7-FLIPI prenant compte de 7 gènes identifiés par *next generation sequencing* : EZH2, ARID1A, MEF2B, EP300, FOXO1, CREBBP et CARD11.³⁴

Concernant les LBDGC, les mutations des gènes codant pour les protéines TNFAIP3 et GNA13, impliquées respectivement dans la signalisation de la voie NF-κB et la régulation du cycle cellulaire, sont associées à une augmentation de l'incidence de mortalité ⁷. Plus récemment, la présence de mutations de NOTCH1 et l'association de mutations de CD79B et MYD88^{L265P} ont été montrées comme prédictives de mortalité quelle que soit l'origine de la cellule tumorale.³⁵

Au diagnostic de LCM, la présence d'une mutation des gènes codant pour NOTCH2 et NOTCH1/2 est associée à une survie plus courte.³⁶

1.3.Cas clinique

L'observation d'un cas clinique m'a conduit à m'intéresser à la survenue de l'hypercalcémie au cours des lymphomes.

Une femme de 65 ans, en rémission complète après splénectomie (en 2005) d'un LZM splénique, est hospitalisée dans le service d'Hématologie et Thérapie Cellulaire du CHRU de Tours en 2015 pour la découverte fortuite d'une hypercalcémie.

L'examen physique met en évidence des adénopathies sus et sous-diaphragmatique.

La tomographie par émission de positon couplée à la tomodensitométrie (TEP-TDM) met en évidence l'hyperfixation d'aires ganglionnaires sus et sous-diaphragmatique et un envahissement osseux (**Figure 3**). La biopsie d'une adénopathie cervicale conclut à un LBDGC. Les similarités des bandes IgH observées dans la splénectomie et l'adénopathie suggèrent la même clonalité.

Le bilan biologique confirme l'hypercalcémie. Le dosage de la parathormone étant en dessous des normes du laboratoire, une cause endocrinienne a pu être éliminée. L'élévation de la forme active de la vitamine D (1,25-dihydroxyvitamine D, calcitriol) et l'hypercalciurie sont en faveur d'une synthèse extra-rénale de 1-alpha-hydroxylase, l'enzyme convertissant la 25-hydroxyvitamine D en calcitriol (**Tableau I**).

Le diagnostic d'une transformation d'un LZM en LBDGC compliquée d'une hypercalcémie liée à une atteinte osseuse et à la synthèse extra-rénale de 1-alpha-hydroxylase est alors posé.

Après hydratation et injection de bisphosphonates, la calcémie est corrigée. Après un cycle de chimiothérapie par R-CHOP, le calcitriol est normalisé.

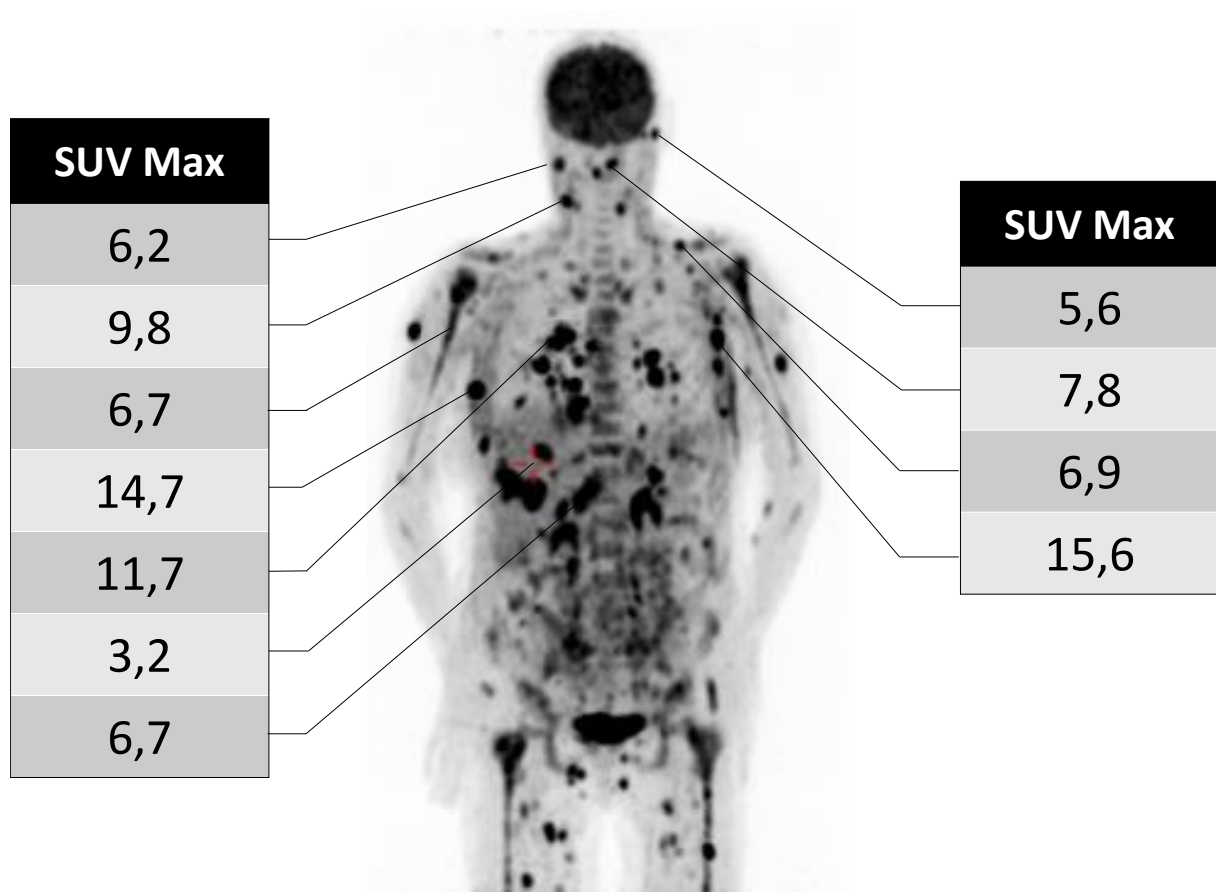


Figure 3 : TEP-TDM à l'admission pour hypercalcémie d'une patiente de 65 ans suivie pour un lymphome de la zone marginale splénique en rémission complète depuis 10 ans. SUV : *standardized uptake values*.

Paramètres	Mesures	Normes du laboratoire
Calcémie (mM)	3,20	2,2-2,6
Albuminémie (g/L)	36	40-50
Calcémie ionisée (mM)	1,63	< 1,30
Parathormone (pg/mL)	6	11,5-78,4
25-hydroxyvitamine D (nM)	42	75-250
1,25-dihydroxyvitamine D (pM)	464	63-228
Calciurie (mmol/24h)	18,36	N≤7,5†

Tableau I : Résultats du bilan du métabolisme calcique de la patiente suivie pour un lymphome de la zone marginale. †Valeur attendue pour la masse corporelle de la patiente (75 kg).

1.4.Problématiques

Les études concernant les données de survenue d'hypercalcémie au cours de cancer ne soulignent pas spécifiquement les caractéristiques cliniques des patients atteints d'un lymphome.³⁷⁻⁴¹

En outre, les données liées aux lymphomes sont issues d'études de populations sélectionnées pour : (i) un mécanisme physiopathologique^{40,42-45}, (ii) un type d'histologie⁴⁶⁻⁴⁹ ou (iii) une atteinte extra-ganglionnaire.⁴⁸ Ces critères de sélection ne permettent pas d'évaluer les caractéristiques des populations à risque d'hypercalcémie au cours d'un lymphome (âge, diagnostic, rechute, histologie, score pronostic, etc.).

Au sein de ces études, les données de survie suggèrent le mauvais pronostic de l'hypercalcémie (médiane de SG entre 2 mois et 40 mois).^{37,41,43,45,48,49} Cependant, les études sont de petits effectifs. De plus, il n'est pas publié de résultats rapportant la SSP au sein d'une large cohorte.

Enfin, aucune étude n'a rapporté des données suggérant l'intérêt de stratégies thérapeutiques anti-tumorales administrées aux patients ayant eu au moins un évènement d'hypercalcémie.

1.5.Métabolisme du calcium chez l'Homme

1.5.1. Répartition du calcium au sein de l'organisme

Chez l'adulte, le calcium représente 1 à 1,2 kg de la masse corporelle.⁵⁰ L'os est le principal site de stockage du calcium (99%), le reste correspond au calcium circulant (1%).⁵¹

1.5.2. L'os est le compartiment de stockage du calcium

Le stock de calcium, sous forme d'hydroxyapatite $[(Ca)_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, participe à la minéralisation et au maintien de la structure osseuse.^{51,52}

Le maintien de la structure osseuse résulte d'un équilibre entre l'activité ostéolytique des ostéoclastes (dérivés des cellules souches hématopoïétiques [CSH]) et l'activité ostéoformatrice des ostéoblastes (dérivés des cellules souches mésenchymateuses). Cet équilibre dépend du ratio de ligand du récepteur NF- κ B (RANKL) et d'ostéoprotégérine (OPG).⁵³

Le RANKL peut être sécrété ou être exprimé par les cellules stromales, les ostéoblastes mais également des cellules immunitaires telles que les lymphocytes T.⁵⁴

Le RANKL se fixe à son récepteur (RANK) ce qui favorise la différenciation des précurseurs ostéoclastiques en ostéoclastes matures puis induit leur activation. L'OPG (synthétisée par les ostéoblastes), piège le RANKL, ce qui empêche sa liaison aux récepteurs RANK (**Figure 4**).⁵²

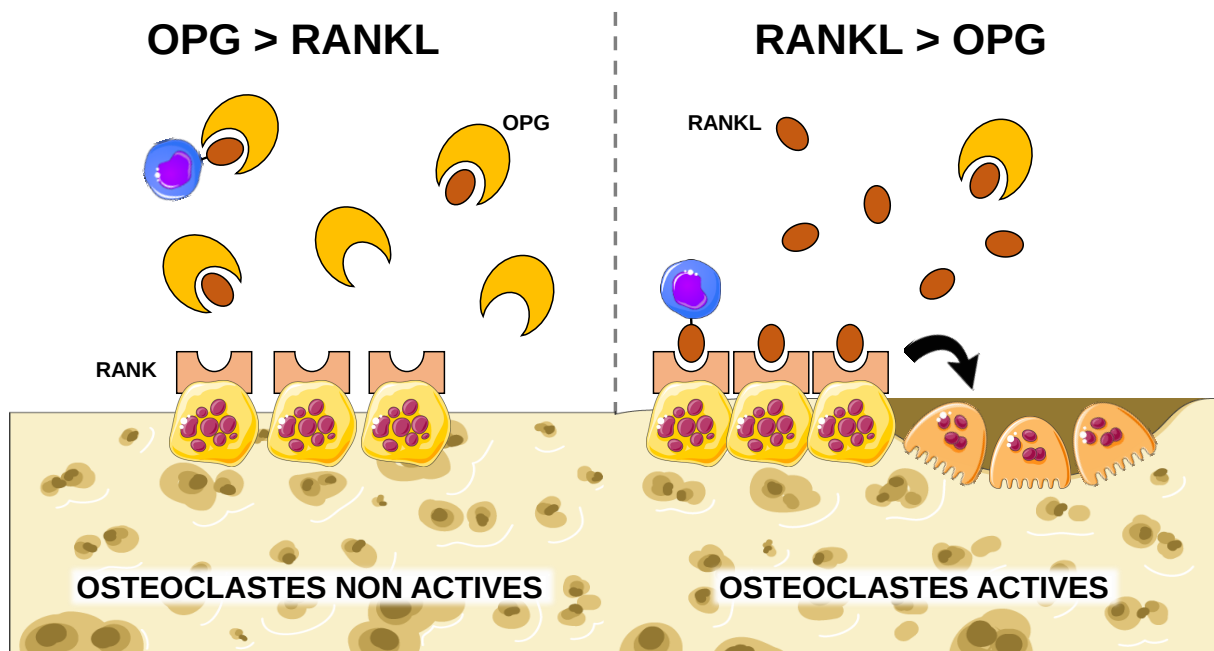


Figure 4 : Différenciation et activation des ostéoclastes en fonction du ratio RANKL/OPG. A gauche : en cas de ratio <1, le RANKL est piégé par l'OPG, les ostéoclastes sont inactifs. A droite : en cas de ratio >1, le RANKL se fixe sur les récepteurs RANK, les ostéoclastes sont activés et engagent les mécanismes d'ostéorésorption. RANKL : ligand du récepteur NF- κ B ; OPG : ostéoprotégérine.

1.5.3. Le calcium total circulant

Le calcium total (tCa) circule sous plusieurs formes : (i) 50% du tCa est ionisé (iCa, aussi nommé libre) ; (ii) 40% est lié aux fonctions carboxyles des protéines (dont 80% à l'albumine, le reste étant lié à d'autres protéines circulantes telles que les immunoglobulines) ; (iii) 10% est lié aux ions et aux molécules ionisées (lactate, bicarbonate, citrate notamment) (**Figure 5**).^{55,56}

1.5.4. Fonctions du calcium circulant

Seul le iCa exerce une fonction physiologique. A l'échelle cellulaire, le calcium est impliqué dans la signalisation et peut réguler les fonctions des organites intracellulaires (notamment la mitochondrie et le réticulum endoplasmique).⁵⁷ A l'échelle du tissu, le calcium peut être impliqué dans l'initiation de la neurotransmission et de la contraction musculaire.^{58,59} Enfin, le calcium circulant peut être impliqué dans la coagulation comme cofacteur de la constitution du clou plaquettaire ou de l'activation des facteurs VIII, IX, X et II.⁶⁰

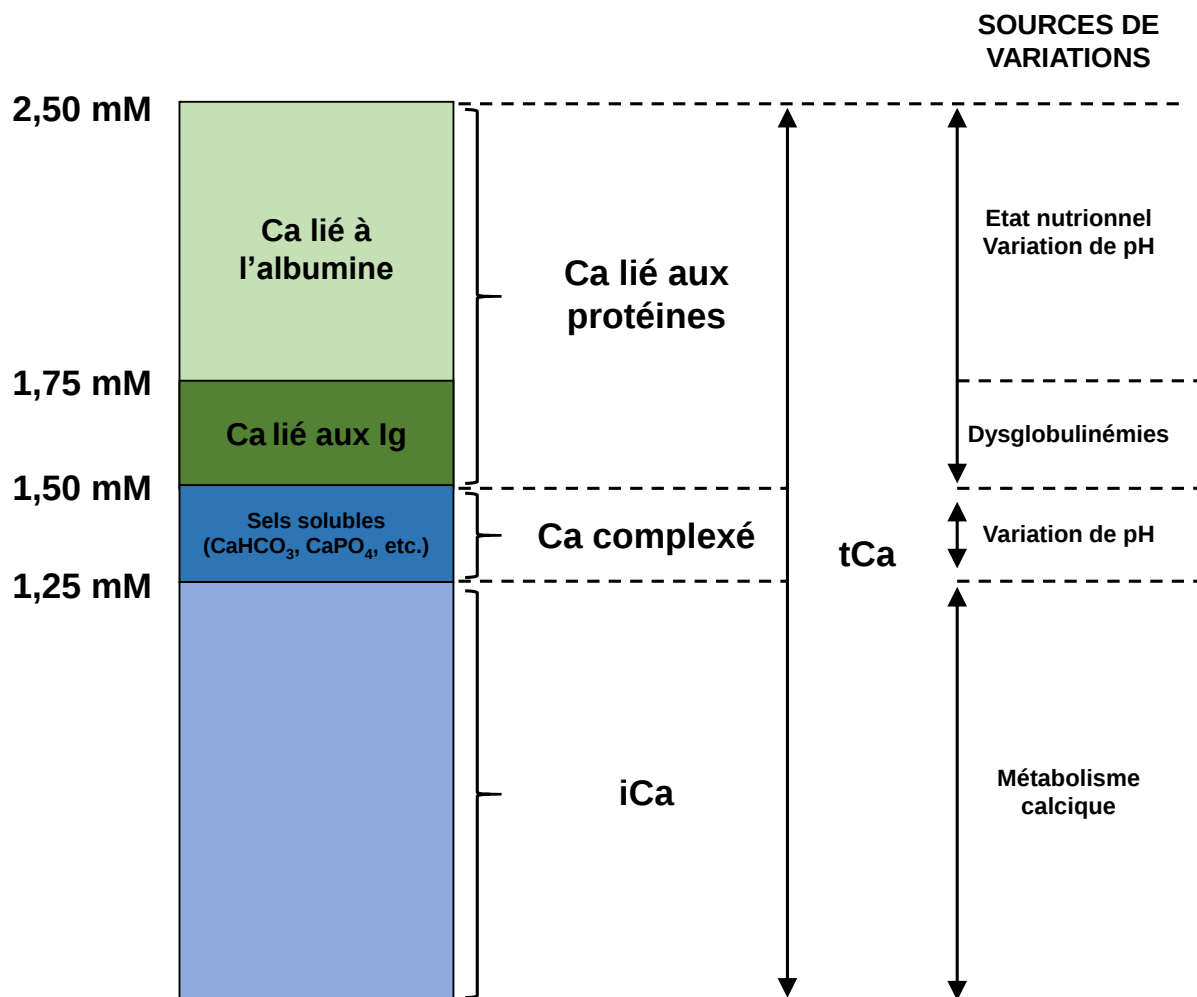


Figure 5 : Représentation schématique des formes constituant le calcium total circulant. iCa : calcium ionisé, tCa : calcium total. Adapté de Gidenne *et al.* et Robertson *et al.*^{55,61}

1.6.Mécanismes de régulation de l'homéostasie du calcium

La concentration de calcium est régulée principalement par l'hormone parathyroïdienne (PTH) et la forme active de la vitamine D (1,25-dihydroxyvitamine D, calcitriol) (Tableau II, Figure 6).

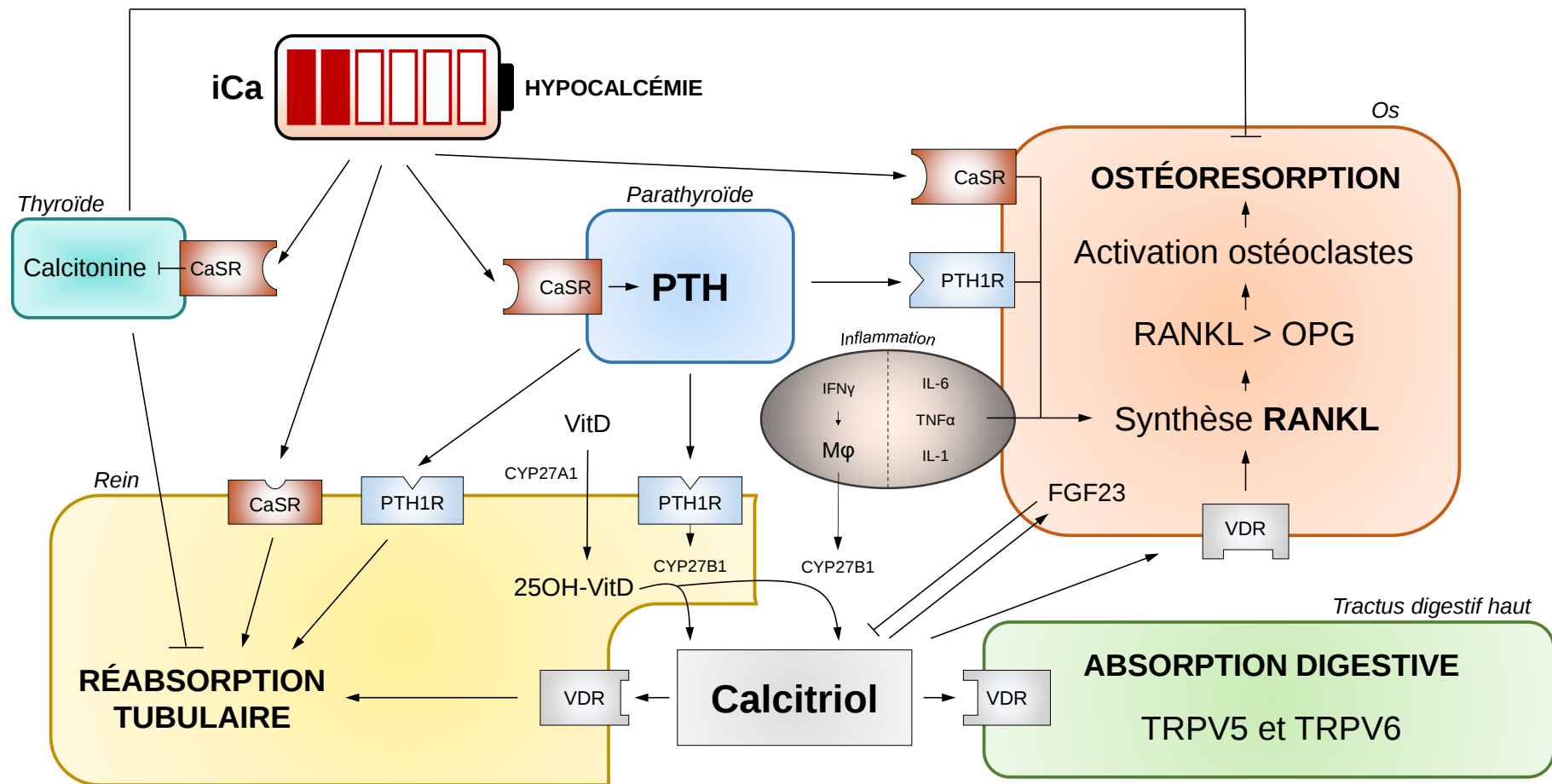


Figure 6 : Mécanismes impliqués dans la régulation de l'homéostasie du calcium chez l'homme. En cas d'hypocalcémie, les récepteurs au calcium (CaSR) ne sont plus saturés par le calcium ionisé (iCa), ce qui induit une libération d'hormone parathyroïdienne (PTH), une synthèse de ligand du récepteur NF-κB (RANKL), une réabsorption du calcium tubulaire et une diminution de la synthèse de calcitonine. Contrairement à la calcitonine, les mécanismes décrits ci-après sont hypercalcémiant. La liaison de la PTH à son récepteur (PTH1R) induit (i) la synthèse de calcitriol à partir de la 25-hydroxyvitamine D (25OH-VitD) par l'augmentation de l'expression de l'enzyme 1-alpha-hydroxylase (CYP27B1) (ii) une réabsorption rénale de iCa (iii) une synthèse de RANKL. Le calcitriol exerce son action après liaison aux récepteurs à la vitamine D (VDR) en augmentant la réabsorption tubulaire rénale, digestive de iCa et en induisant une synthèse de RANKL. Par conséquent, au niveau osseux, la concentration de RANKL devient supérieure à celle de l'ostéoprotégérine (OPG) ce qui entraîne l'activation des ostéoclastes et induit une ostéorésorption, libérant une partie du stock osseux de calcium dans le sang. Les phénomènes inflammatoires sont séparés par une ligne en pointillés selon leur retentissement systémique (à gauche) par la synthèse de CYP27B1 ou local (à droite) par ostéorésorption. Mφ : macrophages ; CYP27A1 : 25 hydroxylase ; FGF23 : fibroblast growth factor 23 ; TRPV : Transient receptor potential vanilloid type.

Protéines	Site d'expression	Organe ou cellule cible	Actions	Impact sur iCa
CaSR	Parathyroïde Thyroïde		Contrôle la synthèse de PTH et de calcitonine	Saturé : ↓ iCa
	Rein	-	Modifie la réabsorption tubulaire de iCa	Non saturé : ↑ iCa
	Os		Synthèse de RANKL	
PTH	Parathyroïdes	Os	Ostéorésorption	↑ iCa
		Rein	Réabsorption tubulaire iCa	
Calcitriol	Reins	Rein Digestif	Réabsorption tubulaire et digestive	↑ iCa
		Os	Ostéorésorption	
Calcitonine	Thyroïde	Os	Inhibition des ostéoclastes	↓ iCa
		Rein	Excrétion rénale et calcium	
FGF23	Os	Rein	Synthèse de CYP24A1 (inactivant le calcitriol)	↓ iCa
IFN-γ	Lymphocytes Th1 et NK	Macrophage	Synthèse CYP27B1 (activant la vitamine D)	↑ iCa

Tableau II : Synthèse des acteurs impliqués dans la régulation du métabolisme calcique. CaSR : récepteur du calcium ionisé ; iCa : calcium ionisé ; PTH : hormone parathyroïdienne ; CYP24A1 : 24-hydroxylase ; FGF23 : fibroblast growth factor 23

1.6.1. Variable régulée et son récepteur : iCa et calcium-ion-sensing receptor

Le *calcium sensing receptor* (CaSR) est le récepteur du iCa. Il est de type métabotrope couplé aux protéines G. Il est principalement exprimé par les cellules épithéliales des glandes parathyroïdiennes, le pôle basal des cellules de la branche large ascendante de Henle (BLAH), des tubules collecteurs rénaux et de l'estomac, par les ostéoblastes et par les cellules C de la thyroïde (**Figure 7**).^{62,63}

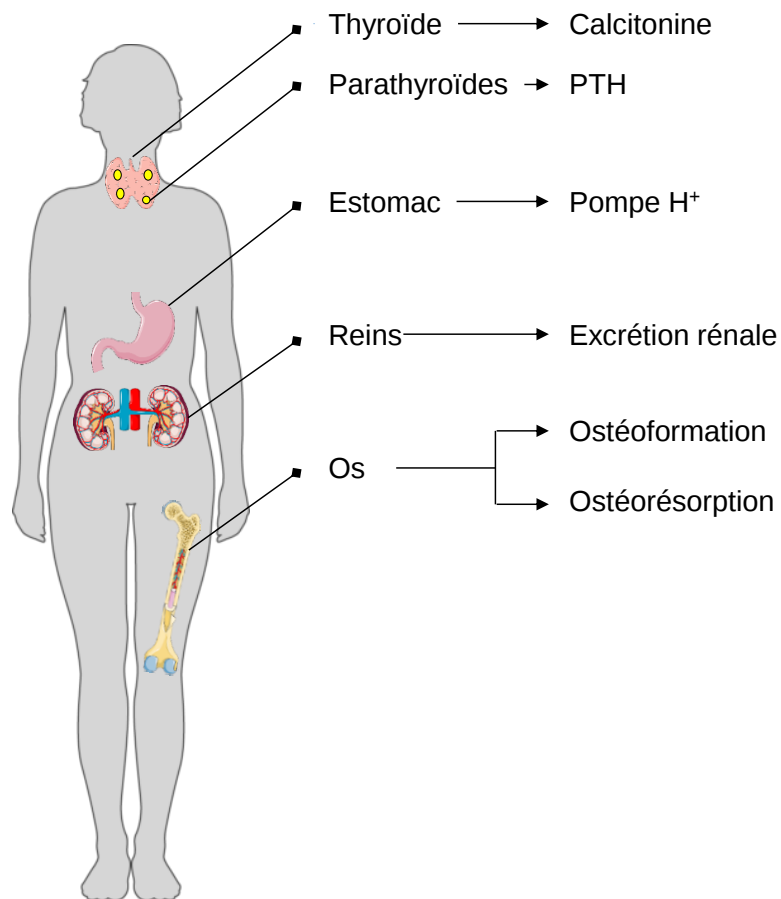


Figure 7 : Localisation de l'expression du *calcium sensing receptor*. PTH : hormone parathyroïdienne.

1.6.2. Conséquences de la liaison du iCa au CaSR

In vitro, le CaSR peut induire la synthèse de la calcitonine, une hormone hypocalcémiante inhibant la résorption osseuse et favorisant l'excrétion rénale du calcium.⁶⁴

En cas d'hypercalcémie, démontrée dans un modèle murin *knock-out Casr^{-/-}*, la fixation du iCa au CaSR inhibe la synthèse d'hormone parathyroïdienne (PTH). Ces souris ont une concentration de PTH 100 fois supérieure aux *wild type*.⁶⁵

Au niveau rénal, la liaison du iCa à son récepteur favorise l'excrétion rénale de calcium indépendamment de la PTH.⁶⁶

Le CaSR au niveau gastrique n'est pas directement impliqué dans le métabolisme calcique mais dans la régulation de la sécrétion d'acide par les pompes à proton des cellules pariétales sécrétrices de protons.⁶⁷

L'activation du CaSR par des cations divalents (notamment le calcium) entraîne une diminution de la résorption de tranche d'os de souris en présence d'ostéoclastes murins.⁶⁸ La culture en milieu enrichi en cations divalents de lignées d'ostéoblastes murins est associée à une augmentation de la division cellulaire.⁶⁹

1.6.3. Premier signal : l'hormone parathyroïdienne intacte

Les cellules principales de la glande parathyroïdienne produisent la PTH d'abord sous une forme preproPTH (115 AA) qui est stockée au niveau des vésicules intra-cytosoliques. La protéolyse permet la sécrétion de la PTH intacte (PTH_i, 84 AA).⁷⁰

Chez le sujet sain, la demi-vie de la PTH est courte (de l'ordre de 2 minutes). Elle n'est plus détectable après 30 minutes, ce qui permet une régulation rapide du iCa.⁷¹ L'injection de chlorure de calcium, chez le sujet sain, diminue le taux sérique de PTH_i de façon précoce (après 1 minute) et avec l'atteinte d'un plateau à partir de 5 minutes. A l'inverse, l'injection de citrate tri-sodium (chélateur du calcium) à des sujets sains, permet d'augmenter le taux de la PTH_i sérique entre 1 et 2 minutes avec atteinte d'un taux sérique en plateau à partir de 5 minutes.⁷² L'étude des cas d'hypercalcémie hypocalciurie familiale a montré que la présence des mutations congénitales inactivatrices du *CaSR* est associée à une hyperparathyroïdie, ce qui suggère une relation entre la variation du taux de PTH et le *CaSR*.⁷³

Les mécanismes d'action de la PTH_i passent par une voie directe et indirecte.

Le mécanisme direct est la conséquence de la liaison de la fraction N-terminale la PTH_i au récepteur couplé à une protéine G (PTH1R). Le gène de ce récepteur est exprimé par des lignées cellulaires d'ostéoblastes et des cellules rénales primaires de sujets sains.⁷⁴ L'injection de l'isotope 47 du calcium chez les sujets sains et les sujets atteints d'hyperparathyroïdie primitive (PTH_i augmentée) a montré (i) une élévation de la concentration sérique de calcium issu de l'os chez les sujets atteints d'hyperparathyroïdie et (ii) une corrélation significative entre le taux de PTH_i et la libération de calcium par l'os.⁷⁵

In vitro, la PTH induit sur la culture des cellules stromales de moelle osseuse murine (i) la surexpression de l'ARNm de RANKL ; (ii) l'inhibition de l'expression du gène OPG à tous les stades de la différenciation d'ostéoblaste. La co-culture d'ostéoblastes avec des ostéoclastes en présence de PTH est associée à une activation des ostéoclastes, réversible après traitement par OPG.⁷⁶

La PTH_i exerce aussi une action directe rénale (au niveau des tubules proximaux, distaux et de la BLAH) favorisant la réabsorption du calcium associée à une hyperphosphaturie.⁷⁰

1.6.4. Second signal, voie indirecte de la PTH : le calcitriol

Le mécanisme indirect est lié à l'augmentation de l'activité de l'enzyme 1- α -hydroxylase qui permet la production de calcitriol par un mécanisme qui ne semble pas être élucidé.⁷⁷

Le calcitriol est le produit de la transformation du 7-déhydrocholestérol. Cette transformation nécessite des mécanismes non enzymatiques et enzymatiques. Le 7-déhydrocholestérol est transformé en vitamine D (cholécalférol) à la suite de l'irradiation UV-B naturelle.⁷⁸ Les aliments riches en vitamine D tels que le poisson, constituent également une source de vitamine D. La vitamine D est transportée dans le sang par des protéines de transport spécifiques. Elle est ensuite hydroxylée au niveau du carbone 25 par la 25-hydroxylase (CYP27A1) principalement exprimée par les hépatocytes, ce qui permet la synthèse de 25-hydroxyvitamine D [25(OH)D].⁷⁹ Une seconde hydroxylation au niveau du carbone 1 de la 25(OH)D est réalisée par la 1-alpha-hydroxylase (CYP27B1), enzyme principalement synthétisée par les cellules épithéliales des tubules rénaux, ce qui permet la synthèse de 1,25-dihydroxyvitamine D (calcitriol).⁸⁰ Le calcitriol est ensuite inactivé par la 24-hydroxylase (CYP24A1) (**Figure 8**).⁸⁰

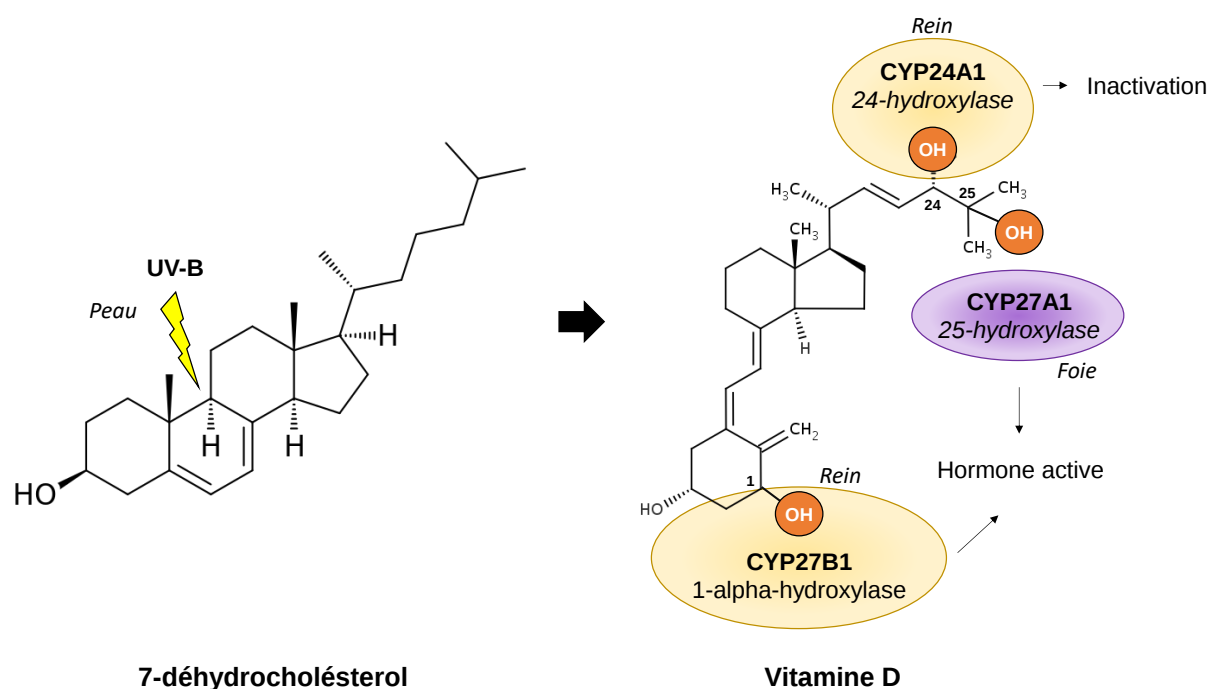


Figure 8 : Différentes transformations du 7-déhydrocholestérol avant la synthèse de vitamine D active. UV-B : rayonnements ultra-violets-B.

La synthèse de calcitriol est dépendante de l'activité enzymatique du CYP27B1. L'expression du CYP27B1 est régulée par la PTH. En cas d'élévation du taux de PTH, la synthèse de CYP27B1 est augmentée ce qui conduit à l'augmentation de la concentration de calcitriol sanguin.⁸⁰

Le calcitriol régule le métabolisme calcique par l'intermédiaire du récepteur de la vitamine D (VDR) exprimé par les cellules pariétales de la muqueuse digestive, les cellules de la matrice osseuse et les cellules pariétales des tubules rénaux.⁸¹

Sur le plan digestif, le modèle murin *Vdr*^{-/-} montre une diminution de l'absorption digestive de calcium administré *per os* comparée aux souris *wild-type*. L'injection de calcitriol permet d'augmenter la synthèse des transporteurs permettant la transcytose tels que les transporteurs membranaires, *Transient receptor potential vanilloid type 6* (TRPV6) et TRPV5 puis le transporteur intracellulaire, Calbindin-D_{9k}. Cependant, des mécanismes para-cellulaires seraient également impliqués.^{81,82}

Sur le plan rénal, la réabsorption du calcium est favorisée par la liaison du calcitriol au VDR permettant l'augmentation d'expression du transporteur membranaire TRPV5 (situé au pôle apical des cellules tubulaires rénales), de l'échangeur NCX1 (situé au pôle basolatéral) et du transporteur intracellulaire, Calbindin-D_{28k}.⁸¹

Au niveau osseux, la liaison du calcitriol au VDR, favorise l'activation ostéoclastique. *In vitro* à partir de cellules murines, la culture de chondrocytes ou d'ostéoblastes avec du calcitriol met en évidence une synthèse de RANKL (sans modification de la synthèse d'OPG). Parallèlement, une augmentation du nombre d'ostéoclastes est observée. L'inactivation du VDR est associée à une diminution de cet effet.⁸³

1.6.5. Autres protéines pouvant influencer le métabolisme calcique

1.6.5.1. Les parathormone-related proteins (PTHrP)

Les PTHrP sont exprimées par les tissus normaux et participent au développement des cartilages, des kératinocytes, des glandes mammaires et à la lactation.⁸⁴ Elles ont été identifiées en contexte tumoral en raison de l'élévation de l'adénosine 3',5-monophosphate cyclique (AMPC) urinaire au cours d'hypercalcémie maligne.

L'AMPC urinaire est le marqueur de l'action de la PTH sur le rein.^{85,86} Chez des patients ayant une tumeur avec une hypercalcémie, l'activité de l'AMPC est supérieure à celle des sujets sains et des patients atteints d'un cancer sans hypercalcémie.⁸⁷

La notion d'hypercalcémie humorale dans le contexte de cancer est introduite lorsqu'une atteinte osseuse métastatique n'a pas été identifiée, ou lorsque la résection complète de la tumeur a permis la correction de l'hypercalcémie. En cas d'hypercalcémie maligne humorale, le taux de l'AMPC est supérieur par rapport aux autres hypercalcémies malignes et aux patients sans hypercalcémie. Cela suggère la présence d'un facteur ayant une activité rénale semblable à celle de la PTH.⁴⁰

Les différentes formes de PTHrP circulant ont été caractérisées au sein de cohortes de sujets sains, d'hyperparathyroïdies primitives et de cancers avec hypercalcémie. Une élévation de la concentration sérique de PTHrP (1-74) est observée chez les patients atteints d'un cancer. Les PTHrP (1-74) sont plus spécifiques des cancers contrairement aux PTHrP (109-138) pour lesquelles le taux est également élevé en cas d'insuffisance rénale chronique.⁴⁰

1.6.5.2. *FGF23*

FGF23 est une hormone synthétisée par les ostéoblastes.⁸⁸ Elle est impliquée dans la régulation du phosphate et intervient aussi dans le métabolisme calcique. En effet, une souris parathyroïdectomisée ayant reçu une injection de FGF23 peut augmenter la synthèse de CYP24A1 (enzyme inactivant le calcitriol).⁸⁹ Des injections de calcitriol peuvent augmenter la synthèse de FGF23 dans ce modèle.⁸⁹ Ces résultats illustrent l'interaction entre les boucles de régulation du calcium et des phosphates.

1.6.5.3. *Macrophages stimulés par l'IFN γ et synthèse de calcitriol*

La synthèse de CYP27B1 extra-rénale a été initialement observée dans un contexte de sarcoïdose chez un patient néphrectomisé. La survenue d'une hypercalcémie associée à une concentration de calcitriol élevée était inattendue compte-tenu de l'absence d'organe producteur de CYP27B1. L'analyse par chromatographie liquide à haute résolution a mis en évidence un taux élevé de CYP27B1 comparé à un sujet sain.⁹⁰

La synthèse de calcitriol est détectable dans un milieu de culture de macrophages alvéolaires pulmonaires issus de patients ayant un diagnostic d'hypercalcémie associée à une sarcoïdose. Cette synthèse est dépendante de la concentration de 25-hydroxyvitamine D ajoutée au milieu de culture et est augmentée sous l'action de l'interféron γ (IFN γ).⁹¹

Sur le plan physiopathologique, il est donc admis que la détection d'une élévation du calcitriol dans un contexte d'hypercalcémie est liée à la synthèse extra-rénale de CYP27B1. Cette synthèse n'est pas régulée par le métabolisme calcique systémique.

1.7. Diagnostic et explorations d'une hypercalcémie

1.7.1. *Retentissement clinique de l'hypercalcémie*

Le caractère ubiquitaire des fonctions du calcium peut expliquer la présentation clinique polymorphe des hypercalcémies. La polydyspie et la polyurie associées à une déshydratation extracellulaire peuvent évoquer une hypercalcémie. Des altérations des fonctions neuromusculaires peuvent se manifester par des troubles de la conduction cardiaque (raccourcissement du QT, aplatissement de l'onde T notamment), des crampes voire des

spasmes. Enfin, en cas d'hypercalcémie majeure, une insuffisance rénale aiguë fonctionnelle et des troubles de la conscience peuvent être observés.^{92,93} Que l'origine de l'hypercalcémie soit bénigne ou maligne, les signes cliniques sont identiques.^{38,39}

1.7.2. Le diagnostic d'hypercalcémie est un diagnostic biologique

Le diagnostic d'hypercalcémie repose sur le dosage de la iCa, le résultat est alors supérieur à la valeur supérieure des normes du laboratoire.⁶¹ La définition de l'hypercalcémie varie donc selon les études (**ANNEXE 9.1**). La calcémie totale plasmatique (tCa) peut être utilisée en approximation de la iCa.⁶¹

1.7.3. Précautions d'interprétation du dosage du calcium total plasmatique

Le dosage du tCa est réalisé par méthode colorimétrique dans 92% des centres français.⁹⁴ Cette méthode permet de mesurer la quantité totale du calcium plasmatique (fraction libre et liée).⁵⁵ Or, cette quantité de calcium n'est pas toujours directement représentative de la quantité de iCa. En routine, la iCa peut être mesurée par potentiométrie.^{95,96} L'accès à la calcémie ionisée peut être difficile en situation d'urgence compte-tenu des conditions pré-analytiques nécessaires à l'obtention d'un résultat interprétable.⁹⁵ C'est pourquoi la tCa réalisée par méthode colorimétrique est le plus souvent utilisée.

L'interprétation de la tCa comme approximation de la iCa doit tenir compte des variations de la concentration plasmatique des protéines et de l'équilibre acidobasique. En outre, les variations de pH peuvent modifier la charge de chaque molécule selon leur pKa (notamment les fonctions carboxyles des protéines, les lactates, les bicarbonates et les phosphates). Par conséquent, la fraction de calcium sous forme complexée et sous forme liée aux protéines est modifiée (**Figure 9**).^{56,97}

La fraction liée aux protéines du tCa pourrait être influencée par la concentration d'Ig.^{98,99} Bien que la liaison du calcium aux Ig ait été montrée à partir de deux patients atteints d'un myélome multiple (MM) à IgG, l'étude des fractions de calcium liées aux protéines du sérum de quatre patients présentant un MM à IgG ou IgA, n'étaient pas différentes par rapport aux valeurs observées chez des patients sans dysglobulinémie.¹⁰⁰

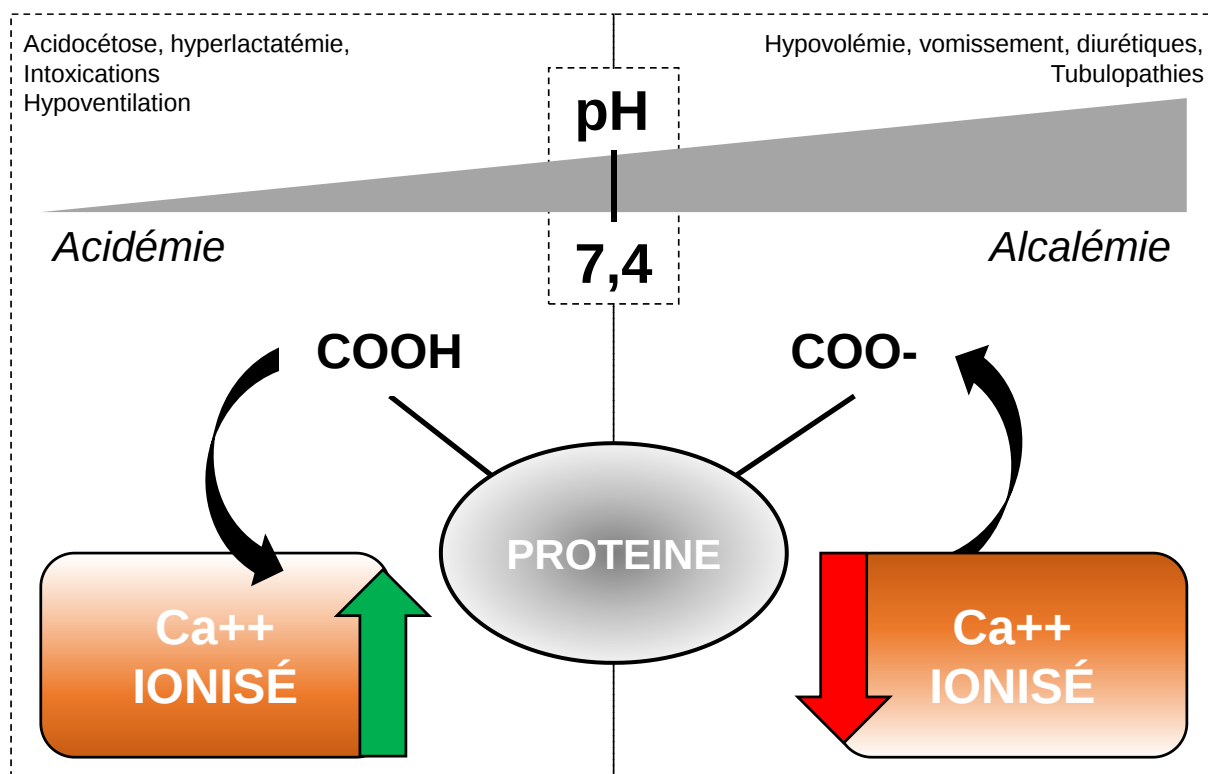


Figure 9 : Représentation schématique des variations de calcium ionisé en fonction du pH. Des exemples de causes de variations de pH sont indiquées dans les coins supérieurs de la figure.

Afin de limiter le risque d'erreur lors de l'approximation de la iCa par la tCa, des formules et des nomogrammes ont été développés pour calculer une calcémie corrigée (cCa). Ces méthodes permettent d'obtenir une valeur de calcémie prenant en compte les variations des paramètres influençant la concentration de iCa (selon les méthodes : albuminémie, protidémie ou pH). La cCa est alors un reflet de la valeur de la iCa à partir de la mesure de la tCa (**Figure 10**).

Les collèges des enseignants nationaux de néphrologie et rhumatologie enseignent et recommandent la formule de calcul de la cCa par rapport à l'albumine^{101,102} :

$$Ca_{\text{corrigée}}^{2+}(\text{mM}) = Ca_{\text{mesurée}}^{2+}(\text{mM}) + 0.025[40 - \text{Albumine}(\text{g/L})].$$

L'utilisation de la cCa est remise en question. L'étude de la corrélation entre les valeurs de iCa et cCa met en évidence une absence de corrélation dans 24% à 32% des cas.¹⁰³ En outre, lors du calcul de la cCa (par utilisation d'un nomogramme prenant en compte l'albuminémie et le pH), le taux de faux négatif est estimé à 85% et 11% pour le diagnostic d'une hypercalcémie et d'une hypocalcémie, respectivement.¹⁰⁴

Au total, le calcul de la cCa permet d'estimer la iCa à partir de la mesure de la tCa. Cependant dans un contexte où l'hypercalcémie est suspectée ou remise en cause par l'examen clinique, la cCa devrait être systématiquement contrôlée par une mesure de la iCa.

	EQUILIBRE	HYPO- ALBUMINEMIE	MYÉLOME MULTIPLE	ACIDÉMIE	ALCALÉMIE
tCa	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
cCa	2,50	2,75	2,25	2,50	2,50
iCa	1,25	1,50	1,00	1,50	1,00

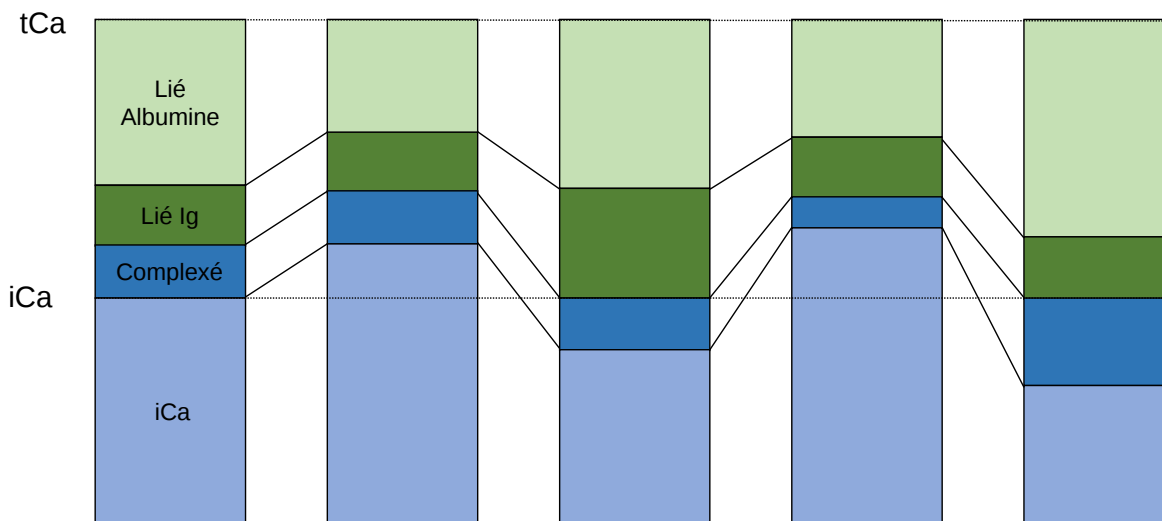


Figure 10 : Représentation schématique de l'influence des variations d'albuminémie et de pH plasmatique sur les résultats du dosage de la calcémie totale mesurée (tCa) par rapport à la calcémie ionisée (iCa) et la calcémie corrigée (cCa). Sur cette illustration, la cCa permet de rendre compte des variations de iCa alors que le dosage de la tCa (constant) ne rend pas compte des variations de iCa. Les lignes horizontales en pointillés représentent les valeurs normales de tCa et iCa. A noter que cette figure considère l'immunoglobuline (Ig) monoclonale du myélome multiple comme favorisant la fixation du iCa.

1.7.4. Explorations biologiques à visée étiologique en cas de survenue d'une hypercalcémie maligne

Il n'existe pas de recommandations françaises concernant les examens de première intention à réaliser en cas d'hypercalcémie. L'algorithme détaillé ci-dessous, issu d'une synthèse des recommandations des collègues d'enseignants et de revues de la littérature, ne décrit pas les causes endocriniennes d'hypercalcémies (**Figure 11**).^{101,102,105-107}

En pratique clinique, l'hypercalcémie étant évoquée à partir d'un dosage de tCa, la première étape est d'évaluer la iCa. La méthode la plus simple et rapidement accessible est d'utiliser le dosage de l'albuminémie et de calculer la cCa à partir de la tCa. Cependant, en cas de discordance clinico-biologique, le dosage de la iCa permet d'affirmer le diagnostic. En pratique, la plupart (63%) des appareils de mesure de la gazométrie disposent d'un module permettant la mesure du iCa par potentiométrie.⁹⁶

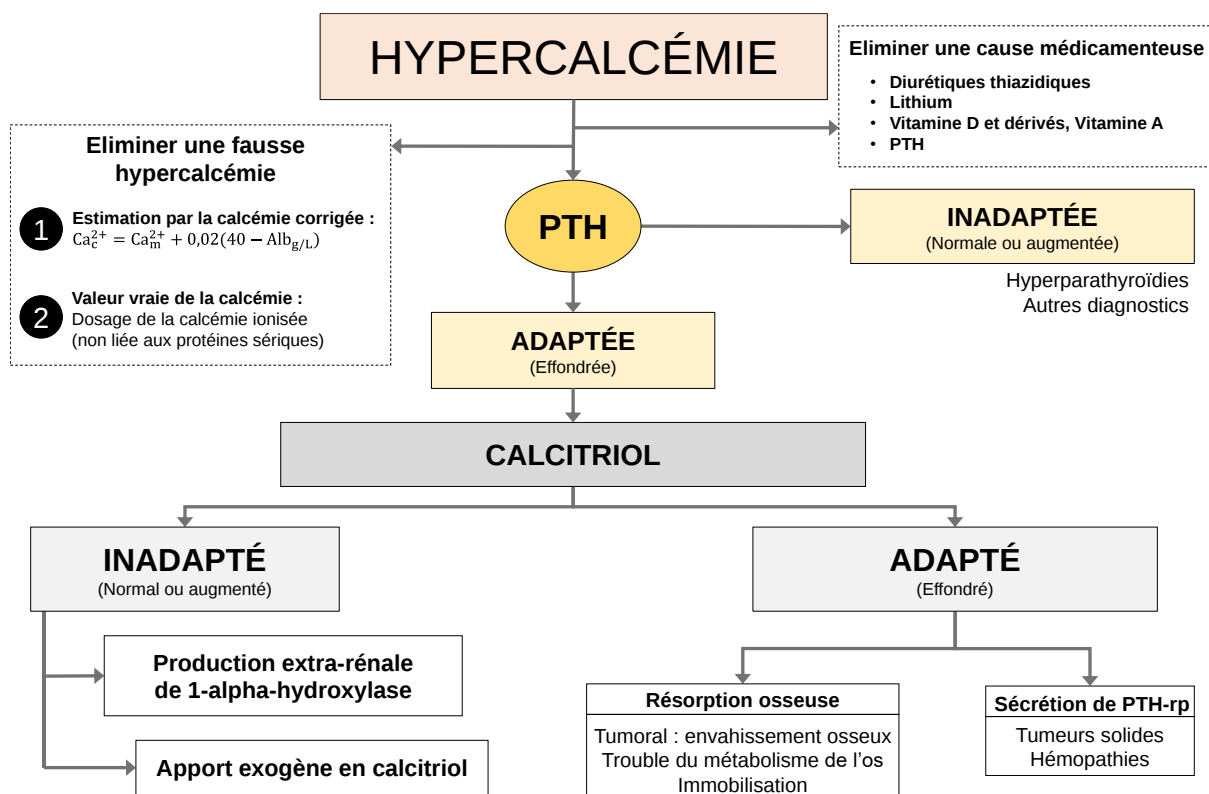


Figure 11 : Orientation diagnostique devant une hypercalcémie.

L'interrogatoire permet ensuite de rechercher des arguments pour des causes non malignes. En effet, 30% des hypercalcémies survenant au cours d'un cancer ne sont pas tumorales.¹⁰⁸ Les causes médicamenteuses sont les premières à éliminer, les diurétiques thiazidiques sont fréquemment utilisés et peuvent être associés à une hypercalcémie dans 2% à 16% des cas par an.¹⁰⁹ Moins fréquemment rencontrés, la vitamine D et ses dérivés, le lithium, la vitamine A ou les injections de PTH peuvent expliquer la survenue d'une hypercalcémie.

Deux examens biologiques clefs permettent d'orienter le diagnostic. Le dosage de la PTH permet d'éliminer une cause endocrinienne alors que le dosage du calcitriol permet d'orienter sur la cause physiopathologique de l'hypercalcémie maligne.

Bien que la suspicion ou le diagnostic de cancer oriente vers une cause spécifique à l'admission d'un patient hypercalcémique, une concentration inadaptée de PTH (élevée) doit faire suspecter une cause endocrinienne. La fréquence de survenue d'une hypercalcémie endocrinienne synchrone à un cancer est évaluée entre 6% à 25% d'hypercalcémie.^{108,110}

Le dosage du calcitriol permet ensuite de rechercher une production extra-rénale de CYP27B1. En effet, en dehors des apports exogènes de calcitriol, si la concentration de calcitriol est inadaptée (élevée), une synthèse de CYP27B1 indépendante de l'action du CaSR et de la PTH

est à évoquer. Cette synthèse extra-rénale peut être liée à une sarcoïdose dans 49% des cas, une hémopathie maligne dans 17% des cas et une tuberculose dans 7% des cas.¹¹¹

En cas de concentration de calcitriol adaptée (effondrée), une ostéorésorption ou une synthèse de PTHrP par la tumeur peuvent être évoquées. Le dosage des PTHrP permet de confirmer sa synthèse par la tumeur. En l'absence de détection de PTHrP circulante, une cause d'hypercalcémie par ostéorésorption peut être évoquée.

En résumé, les mécanismes responsables d'une hypercalcémie maligne sont : (i) une synthèse de PTHrP, l'hypercalcémie est alors dite « humorale » en raison des similitudes de la présentation biologique avec celle d'une hyperparathyroïdie ; (ii) une synthèse de CYP27B1 extra-rénale ayant pour conséquence la production de calcitriol ; (iii) l'ostéorésorption. Les examens permettant d'orienter le diagnostic vers les grands cadres physiopathologiques d'hypercalcémie maligne sont résumés dans le **Tableau III**.^{107,110}

		PTHrP (humoral)	Calcitriol^a	Ostéorésorption
Sang	PTH	i	i	i
	PTHrP	↑	i	i
	Calcitriol	N	↑	N
	Phosphatémie	↓	↓ ou N	N
Urines	Phosphaturie	↑	N	N
	AMPc	↑	N	N
	Calciurie	N ou ↓	↑	↓

Tableau III : Caractéristiques biologiques orientant vers un mécanisme physiopathologique responsable d'une hypercalcémie maligne. Traduit et adapté de Seymour et Gagel.¹⁰⁷ ^aPar la synthèse de 1-alpha-hydroxylase ; ↓, ↑, N : inférieur, supérieur ou dans les normes du laboratoire, respectivement ; i : indétectable ;

1.8. Physiopathologie de l'hypercalcémie au cours des lymphomes

La survenue d'une hypercalcémie dans un contexte tumoral peut être liée au retentissement de phénomènes systémiques entraînant une ostéorésorption associée à une réabsorption rénale ou digestive de calcium par l'action du PTHrP ou du calcitriol, respectivement. Une ostéorésorption isolée peut également être responsable de l'hypercalcémie (**Figure 12**).

L'hypercalcémie associée à un lymphome sans cause humorale ni d'excès de calcitriol ni d'atteinte osseuse détectable a déjà été rapportée.^{112,113} Elle est estimée à 59% des patients dans une série de 17 cas de lymphomes.⁴³ Ces données pourraient suggérer la présence de protéines circulantes, différentes du calcitriol et de la PTHrP ayant une action sur l'os à distance du lymphome.

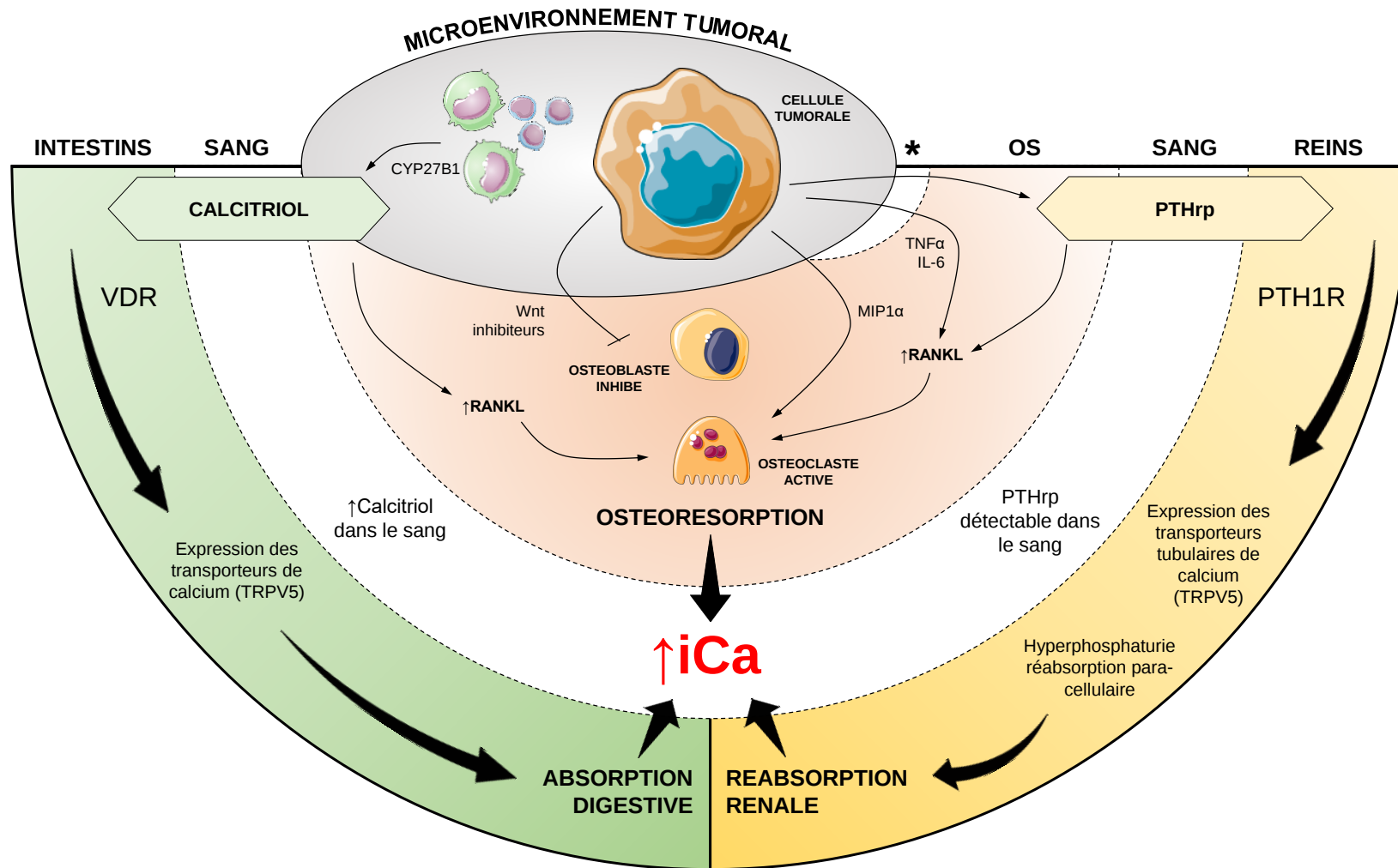


Figure 12 : Mécanismes responsables d'une hypercalcémie (↑iCa) maligne. Les mécanismes d'ostéorésorption sont liés à une augmentation de l'activité des ostéoclastes et une inhibition des fonctions ostéoformatrices des ostéoblastes. Ces mécanismes peuvent être médiés par les *parathyroid hormone-related proteins* (PTHrP), les ligands du récepteur au NF-κB (RANKL) ou la protéine *macrophage inflammatory protein* (MIPα). Les mécanismes systémiques sont liés aux deux hormones PTHrP et calcitriol pouvant être synthétisées par la tumeur ou son environnement. Elles induisent une augmentation de l'absorption digestive et rénale de calcium, respectivement. *Cette zone non colorée représente les patients sans atteinte osseuse avec détection de cytokines sériques, suggérant un mécanisme d'ostéorésorption à distance médié par un facteur circulant. CYP27B1 : 1-alpha-hydroxylase ; PTH1R : *Parathyroid receptor* ; TRPV : *Transient receptor potential vanilloid type* ; VDR : *vitamin D receptor*.

1.8.1. Hypercalcémie maligne par mécanisme d'ostéorésorption

L'altération de l'homéostasie osseuse peut induire une hypercalcémie. L'étude de l'effet de la PTH sur le métabolisme calcique a mis en évidence le rôle de l'ostéorésorption dans la libération du stock calcique osseux vers le sang.^{51,53,75} L'ostéorésorption est la conséquence de la différenciation et de l'activation des ostéoclastes associées ou non à une inhibition de la différenciation et de l'activité des ostéoblastes (**Figure 13**).

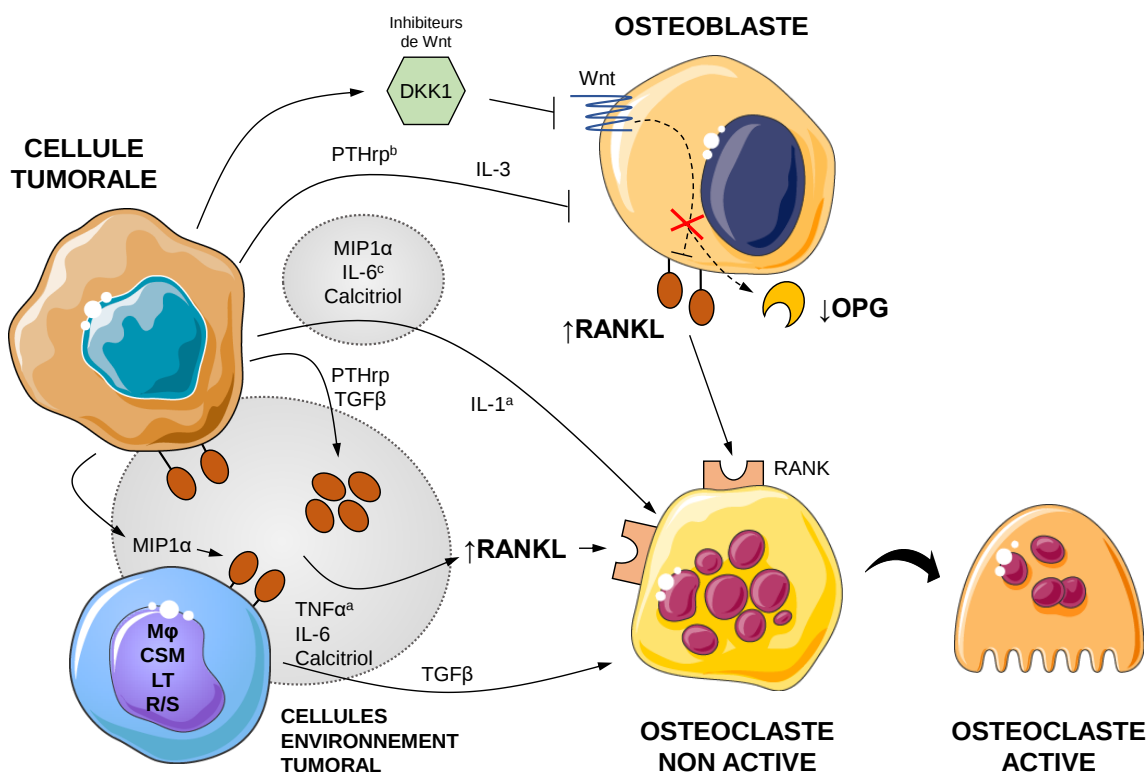


Figure 13 : Différents mécanismes locaux qui pourraient favoriser l'ostéorésorption au cours du cancer. Les zones grisées correspondent aux mécanismes ayant été observés au cours d'un lymphome. ^aL'effet de l'IL-1 et du TGFα sont synergiques avec ceux des *Parathyroid hormone-related proteins* (PTHrP). Mφ : macrophages ; LT : lymphocytes T ; CSM : Cellules mésenchymateuses ; R/S : cellules de Reed-Sternberg ; RANK : récepteur NF-κB ; RANKL : ligand du RANK ; OPG : ostéoprotégérine ; DKK1 : dickkopf1.

1.8.1.1. Différenciation et activation des ostéoclastes associées à une augmentation de l'expression de RANKL

Les cellules tumorales peuvent favoriser l'expression du RANKL au sein de l'environnement tumoral. Dans un modèle murin, après injection d'une lignée d'adénocarcinome mammaire il est observé une augmentation d'activité des ostéoclastes et d'expression de RANKL par les ostéoblastes.¹¹⁴

Dans le cadre du MM chez l'homme, l'étude par immunohistochimie de biopsie médullaire a mis en évidence un déséquilibre du ratio d'expression des protéines RANKL/OPG en faveur du RANKL.¹¹⁵ Un modèle murin de xénogreffe de lignée de MM traitée *in vitro* par anticorps

anti-RANK met en évidence une diminution de l'ostéorésorption et de l'activation des ostéoclastes.¹¹⁵

L'incidence de l'hypercalcémie est de 23% à 65% pour les leucémies/lymphomes à cellules T de l'adulte (ATLL).¹¹⁶ Parmi les cytokines produites en culture par les cellules de patients atteints d'ATLL, la sécrétion de RANKL est significativement supérieure dans le groupe de cellules provenant de sujets atteints d'ATLL avec hypercalcémie. La co-culture de cellules ATLL de patients ayant une hypercalcémie avec des CSH (CD34⁺c-kit⁺) est associée à une augmentation de la différenciation du nombre des CSH différenciées en ostéoclastes.¹¹⁷

La recherche de l'expression de RANKL par les lymphocytes tumoraux d'un cas rapporté de lymphome folliculaire (LF) de stade IV osseux sans hypercalcémie a mis en évidence deux populations lymphoïdes tumorales, avec la présence ou l'absence d'expression de RANKL.¹¹⁸ En outre, l'expression de la protéine RANKL par les cellules lymphomateuses, est détectée chez 2 patients ayant une atteinte osseuse tandis que seuls 2 des 29 patients n'ayant pas d'atteinte osseuse expriment RANKL.¹¹⁹ L'expression de RANKL est observée sur des lignées cellulaires de LNH et de Hodgkin/ Reed-Sternberg.^{119,120} La co-culture des lignées de LNH avec des pré-ostéoclastes humains permet d'activer leur différenciation en ostéoclastes.¹¹⁹

1.8.1.2. Cytokines pouvant influencer la différenciation et l'activation des ostéoclastes

1.8.1.2.1. Macrophage inflammatory protein 1

Ex vivo, la différenciation des cellules mononucléées non adhérentes en ostéoclastes est supérieure après l'ajout du plasma de moelle osseuse des patients atteints de MM. Le taux sérique de la cytokine, *macrophage inflammatory protein 1* (MIP1a ou CCL3), est plus élevé chez les patients atteints d'un MM avec atteinte osseuse que les sujets sains et les patients atteints d'une autre hémopathie lymphoïde.¹²¹

La présence de MIP1a dans le milieu de culture des pré-ostéoclastes, issus d'os de lapin, permet la différenciation en ostéoclastes.¹²² Les précurseurs ostéoclastiques isolés de cellules mononucléées médullaires de sujets sains se différencient plus fréquemment en ostéoclastes en présence de MIP1a de manière dose dépendante.¹²³ L'interaction entre MIPa et le RANKL n'est pas consensuelle. Pour Han *et al.*, MIPa n'augmente pas l'expression de RANKL, contrairement à l'observation de Abe *et al.*.^{122,123}

La synthèse de MIPa et MIP1 β a été observée au sein du prélèvement de moelle osseuse issu d'une patiente atteinte d'un LBDGL stade IV osseux avec hypercalcémie.¹²⁴ Hattori *et al.* ont

étudié l'expression de MIPa par les lymphocytes purifiés issus d'un prélèvement médullaire d'un patient présentant une hypercalcémie au diagnostic d'un lymphome à cellules du manteau (LCM) avec envahissement médullaire sans atteinte osseuse radiologique. La transcription du gène de MIPa par RT-PCR est comparable aux patients atteints de MM et supérieure à celle des patients atteints d'MCL sans hypercalcémie.¹¹²

1.8.1.2.2. IL-6 et TNF α

L'élévation du taux de l'IL-6 est observée dans le modèle murin de xénogreffe de lignée de carcinome épidermoïde. En effet, bien que les synthèses de l'IL-6, l'IL-1 et le TNF α soient détectables par RT-PCR au sein de la tumeur greffée, seul l'ARNm de l'IL-6 est significativement augmentée. Le traitement par anticorps anti-IL-6 est associé à une diminution de l'ostéorésorption ainsi qu'une diminution des ostéoclastes activés et une augmentation de l'ostéoformation.¹²⁵

Yoneda *et al.* ont mis en évidence une augmentation du taux sérique de TNF α dans le modèle murin de xénogreffe avec des cellules de carcinome épidermoïde d'un patient ayant une hypercalcémie. L'injection d'anticorps anti-TNF α aux souris a permis de diminuer l'hypercalcémie. Enfin, une production de TNF α a été observée lors de la culture de monocytes ou d'une lignée leucémique myéloblastique (HL-60) avec le surnageant tumoral¹²⁶, suggérant l'influence des cellules tumorales sur les macrophages de l'environnement tumoral dans la synthèse des cytokines pro-inflammatoires telle que le TNF α .

Le rôle physiopathologique de l'IL-6 et du TNF α dans la survenue d'une hypercalcémie a été étudié en cas de pathologie lymphomateuse. Parmi les facteurs favorisant la résorption osseuse, Beaudreuil *et al.* ont mesuré une augmentation des concentrations de TNF α chez des patients présentant une transformation en lymphome de haut grade ayant une hypercalcémie. Un patient avait un taux de TNF α élevé comparé aux valeurs observées chez des patients présentant une transformation sans hypercalcémie.⁴⁷ Enfin, Daroszewka *et al.* ont observé une augmentation du taux sérique de l'IL-6 et du TNF α dans un contexte de recrudescence d'hypercalcémie au cours de la prise en charge d'un lymphome B de haut grade avec localisation osseuse.¹²⁷

1.8.1.2.3. TGF β

Insogna *et al.* ont identifié du *transforming growth factor*- β (TGF β) dans le surnageant de culture de lignées de cancer du sein. TGF β ayant une activité dans la production d'AMPc, les auteurs ont conclu à un rôle de TGF β similaire à l'activité de la PTHi.¹²⁸ A partir du modèle murin de greffe intra-osseuse et sous-cutanée de carcinome de prostate, Sato *et al.* ont montré que le TGF β pouvait être synthétisé par la matrice osseuse. En parallèle du rôle du TGF β , des

injections de RANKL favorisent la différenciation des ostéoclastes sous l'effet du TGF β au niveau intra-osseux.¹²⁹

Niitsu *et al.* ont montré une augmentation de synthèse du TGF β au sein des cellules primaires des patients atteints d'ATLL comparé à des cellules leucémiques de type leucémie myéloïde chronique, leucémies aiguës myéloblastiques et lymphoblastiques.¹³⁰

1.8.1.2.4. IL-1

Sato *et al.* ont montré le rôle synergique de l'IL-1 et de la PTHrP dans la survenue d'une hypercalcémie associée à l'ostéorésorption, à partir d'un modèle murin de xénogreffe avec des cellules de cancer ovarien issues d'une patiente ayant une hypercalcémie comparé à une xénogreffe avec des cellules de carcinome épidermoïde issues d'un patient sans hypercalcémie.¹³¹

L'étude par immunohistochimie de l'expression de l'IL-1 à partir des prélèvements de 4 patients atteints de LNH B de localisation osseuse (confirmée par IRM) a mis en évidence une faible expression de l'IL-1.¹³²

Le rôle de l'IL-1 dans la survenue d'une hypercalcémie est à modérer compte-tenu de l'absence d'hypercalcémie après l'administration de l'IL-1 comme facteur de croissance granulocytaire dans le cadre de l'intensification et autogreffe de CSH (ASCT) au cours de LNH et LH.¹³³

1.8.1.3. Rôle des ostéoblastes : déséquilibre du ratio OPG/RANKL

L'étude comparative de l'expression des gènes de plasmocytes issus de patients atteints d'un MM, avec ou sans lésion ostéolytique, a mis en évidence une expression plus élevée de plusieurs protéines notamment dickkopf1 (DKK1). DKK1, un inhibiteur de la signalisation Wnt, a été étudié plus précisément compte-tenu de ses fonctions de régulation de différenciation des ostéoblastes. Le dosage par test ELISA de DKK1 dans le plasma de moelle osseuse a mis en évidence une concentration plus élevée chez les patients atteints d'un MM ayant une atteinte osseuse.¹³⁴

Qiang *et al.* ont ensuite montré l'effet de DKK1 sur l'ostéolyse liée à l'inhibition de la synthèse d'OPG et à l'induction de l'expression de RANKL par des co-culture d'ostéoblastes avec des plasmocytes de patient atteints de myélome.¹³⁵

En cas de pathologie lymphomateuse, Lazarevic *et al.* ont mesuré l'expression de DKK1 à partir des prélèvements médullaires et sanguins d'un patient présentant une transformation d'une LLC avec atteinte osseuse. Ils montrent que le niveau d'expression de DKK1 est inférieur à celui des

patients atteints de MM avec atteinte osseuse.¹³⁶ Il s'agit des seules données publiées concernant la dysfonction ostéoblastique et les inhibiteurs de Wnt dans un contexte de lymphome.

1.8.2. Hypercalcémie maligne « humorale » par synthèse de PTHrP

1.8.2.1. Fréquence de l'association entre l'hypercalcémie lymphomateuse et détection de PTHrP

Les hypercalcémies avec élévation de la PTHrP sont associées aux cancers solides dans 83% à 85% des cas.^{44,45} Une première étude rétrospective rapportant l'ensemble des hypercalcémies malignes associées à une élévation de PTHrP (n=138), met en évidence douze (9%) patients avec une hémopathie maligne compliquée d'une hypercalcémie liée à une PTHrP. Parmi eux, sept (58%) cas étaient de type LNH, deux (16%) cas de MM, deux (16%) cas de LLC et un (8%) cas de leucémie à plasmocytes.⁴⁴ Au sein d'une cohorte de 115 patients coréens ayant une hypercalcémie et une élévation de la PTHrP, 4% des cas avaient une hémopathie maligne. Parmi les hémopathies malignes, neuf (53%) patients avaient un MM et cinq (29%) un LNH, respectivement.⁴⁵ Firkin *et al.* ont observé une sécrétion de PTHrP dans 50% de LNH et dans 33% de MM.⁴²

Au sein d'une cohorte de 54 patients atteints d'un LNH avec une hypercalcémie sans envahissement osseux, 24 patients ont fait l'objet d'un dosage de PTHrP. Pour trois (12,5%) patients, le taux de PTHrP était élevé.⁴³

Ces études mettent en évidence la faible proportion des hypercalcémies associées à une détection de PTHrP circulante au cours d'une pathologie lymphomateuse. Il n'a pas été observé de LH avec hypercalcémie liée à une détection de la PTHrP.

1.8.2.2. Hypercalcémie liée à l'ostéorésorption médiée par les PTHrP

Dans le modèle murin de cancers solides, l'injection en sous-cutanée de lignées d'adénocarcinome mammaire sécrétant de la PTHrP est associée à l'augmentation (i) de l'expression de RANKL ; (ii) du nombre d'ostéoclastes activés. Enfin, la culture de lignées de préostéoblastes avec PTHrP est associée à la transcription de RANKL.¹¹⁴

Dans le cadre du MM, l'effet autocrine de l'expression de la PTHrP et de son récepteur (PTH1R) sur les lignées primaires de MM favorise l'expression de RANKL sur les plasmocytes.¹³⁷

Dans le cadre des pathologies lymphomateuses, Nakayama-Ichihara *et al.* ont montré par immunohistochimie l'expression de la PTHrP et de son récepteur (PTH1R) au niveau des cellules lymphomateuses d'une adénopathie d'un patient présentant une hypercalcémie à la rechute d'un LBDGC réfractaire de stade IV osseux.¹³⁸ Wada *et al.* ont observé que des lignées d'ostéoblastes mises en culture avec des extraits tumoraux d'un lymphome folliculaire (probablement transformé) de stade IV osseux, sécrétant de la PTHrP, induisait une modification de la signalisation attestée par la production d'AMPc par les ostéoblastes.¹³⁹

1.8.2.3. Hypercalcémie liée à la réabsorption rénale du calcium médiée par les PTHrP

Horwitz *et al.* ont montré un effet comparable des injections de PTHi et de PTHrP sur la diminution de l'excrétion rénale du calcium.¹⁴⁰

1.8.2.4. Les PTHrP n'induisent pas d'augmentation du calcitriol

Contrairement à l'effet de la PTHi au cours des hyperparathyroïdies primitives, la sécrétion de PTHrP n'est pas associée à l'augmentation de la synthèse de calcitriol.^{140,141}

1.8.3. Hypercalcémie maligne par synthèse extra-rénale de calcitriol

1.8.3.1. Fréquence d'association entre hypercalcémie lymphomateuse et élévation du calcitriol

Le dosage du calcitriol des patients suivis pour un LNH ayant une hypercalcémie avec PTHrP indétectable met en évidence deux groupes selon le taux de calcitriol. Un groupe ayant une élévation du taux de calcitriol (55%, n=12/22) et un autre groupe sans élévation du calcitriol (45%, n=10/22). Parmi le premier groupe, quatre patients ont normalisé le taux de calcitriol après traitement spécifique du lymphome.⁴⁶

La même équipe a publié une revue exhaustive des cas et des séries rapportés d'hypercalcémie médiée par le calcitriol au cours des pathologies lymphomateuses. Ils montrent que l'élévation du calcitriol est rencontrée chez 80 à 99% des sujets atteints de LH avec hypercalcémie et serait de l'ordre de 30 à 40% des sujets atteints LNH avec hypercalcémie.¹⁰⁷ Shallis *et al.* ont rapporté une cohorte de 54 cas de LNH avec hypercalcémie sans atteinte osseuse, 31 (57%) patients avaient eu un dosage de calcitriol et uniquement sept (22,5%) avaient un taux de calcitriol supérieur à la normale.⁴³

1.8.3.2. Site extra-rénal de production de CYP27B1 au cours du lymphome

La synthèse extra-rénale de CYP27B1 peut être observée en cas de pathologie granulomateuse telle que la tuberculose ou la sarcoïdose. L'élévation inadaptée du calcitriol est observée en cas

de lymphome. La correction de la concentration de calcitriol après chimiothérapie confirme le rôle spécifique du lymphome dans la synthèse de calcitriol.⁴⁶

La culture de cellules lymphomateuses issues de l'adénectomie d'un LBDGC compliqué d'une hypercalcémie médiée par un excès de calcitriol a mis en évidence une production de cette hormone en culture après l'ajout de 25(OH)D.¹⁴² Plus tard, Hewinson *et al.* ont mis en évidence par immunohistochimie que la localisation de l'expression de CYP27B1 est superposable à celle du CD68 (marqueur des macrophages) en périphérie des cellules lymphomateuses B.¹⁴³

1.9.Caractéristiques des patients atteints de lymphome lors de la survenue d'une hypercalcémie maligne

1.9.1. Fréquence et incidence de la survenue d'une hypercalcémie maligne au cours d'un lymphome

La survenue d'une hypercalcémie au cours d'un lymphome est rare. Parmi les études publiées, l'incidence varie entre 0,9% et 6,4 pour cent nouveaux cas par an (**Tableau IV**).^{37,41,42,46,49,144}

Référence	Période (durée)	n/N (%)	Incidence par an (%)
<i>Burt et al.</i> ^{144 a}	1970-1977 (7 ans)	78/760 (10,2)	1,5
<i>Vassilopoulou et al.</i> ^{41 a}	1989 (1 an)	4/381 (1,0)	1,0
<i>Seymour et al.</i> ^{46 b}	1992-1993 (1 an)	22/345 (6,4)	6.4
<i>Firkin et al.</i> ⁴²	NP (17 mois)	5/65 (7,7)	5,4
<i>Majumdar</i> ⁴⁹	NP (5 ans)	8/112 (7,1)	1,4
<i>Gastanaga et al.</i> ^{37 a,b}	2009-2013 (4 ans)	596/17786 (3,4)	0,9

Tableau IV : Synthèse des articles rapportant la fréquence de l'hypercalcémie au cours de la prise en charge d'un lymphome. n/N : nombre de patients diagnostiqués d'un LNH et LH avec hypercalcémie sur la population totale de LNH et LH rapportée. ^aEtudes non exclusives aux hémopathies ^bEtudes décrivant les lymphomes non-Hodgkinien exclusivement.

Dans une cohorte incluant tous types de cancers diagnostiqués entre 1970 et 1977, l'incidence de survenue d'une hypercalcémie est de 13% et 5% nouveaux cas par an dans les sous-groupes de patients suivis pour un LNH et un LH, respectivement.¹⁴⁴

Parmi 381 dossiers de patient ayant eu au moins un dosage du calcium au diagnostic d'un LNH en 1989 au MD. Anderson (Houston, Texas), quatre avaient un diagnostic de LNH avec hypercalcémie. Dans ce centre l'incidence est alors estimée à 1,0% nouveaux cas sur l'année 1989.⁴¹

Entre 1992 et 1993, Seymour *et al.* ont inclus consécutivement 22 patients avec hypercalcémie parmi les 345 nouveaux diagnostics de LNH de leur centre, soit une incidence par an de 6,4% nouveaux cas.⁴⁶

Parmi 59 et 6 patients diagnostiqués d'un LNH et de LH, respectivement, inclus sur 17 mois, 5 (8,5%) et 0 cas d'hypercalcémie maligne sont rapportés, soit une incidence annuelle de 5,4%.⁴³

Une étude rétrospective sur 5 ans de 112 LNH a rapporté 8 cas (7,1%) d'hypercalcémie soit une incidence annuelle de 1,4 pour cent événements.⁵⁰

Enfin, une étude de registre incluant tout type de cancer entre 2009 et 2013 rapporte 17786 diagnostics de LNH dont 596 (3,4%) cas d'hypercalcémie soit une incidence annuelle de 0,9 pour cent événements.³⁸

1.9.2. Caractéristiques des patients présentant une hypercalcémie au cours d'un lymphome

1.9.2.1. Histologies associées à la survenue d'une hypercalcémie

L'hypercalcémie est observée dans tous types de lymphome, LNH (80,8%) et LH (19,2%).¹⁴⁴ Cependant toutes les cohortes ne mentionnent pas de cas de LH.^{37,41,42,44,45}

Au sein des LNH, les LNH à cellules B sont majoritaires comparés aux LNH à cellules T (90,9% à 92% contre 8% à 9,1%, respectivement).^{43,46}

Au sein des LNH à cellules B, les LBDGC sont plus fréquemment observés (62% à 87,5% des patients)^{43,49,107}, pour 22 patients, 70% des cas étaient de type non-centre germinatif selon l'algorithme de Hans.^{43,145}

La fréquence des transformations de LNH à cellules B de bas grade parmi les cohortes de LNH avec hypercalcémie est rapportée entre 8,8% et 16%.^{43,47}

Les LNH associés à une hypercalcémie sont de haut grade dans 76% à 100% des cas (Tableau V).

La prévalence des principaux sous-types de LNH à cellules B de bas grade est de 33% pour les lymphomes lymphocytiques, 25% pour les LF et 16% pour les LZM.⁴³

Concernant les LH, parmi 29 patients avec hypercalcémie, neuf (31%) étaient de type scléronodulaire, cinq (17%) à prédominance lymphocytaire, huit (28%) à cellularité mixte et sept (24%) lymphodéplétés.¹⁰⁷

Références	Total LNH	Haut grade, n (%)	Bas grade, n (%)
<i>Burt et Brennan</i> ¹⁴⁴	63	55 (87)	8 (13)
<i>Seymour et Gagel</i> ¹⁰⁷	19	18 (95)	1 (5)
<i>Seymour et al.</i> ⁴⁶	22	21 (95)	1 (5)
<i>Firkin et al.</i> ⁴²	5	5 (100)	0 (0)
<i>Majumdar</i> ⁴⁹	8	7 (88)	1 (2)
<i>Shallis et al.</i> ³⁴	50 ^a	38 (76)	12 (24)
Total	167	144 (86)	23 (14)

Tableau V : Synthèse des données issues des publications concernant la fréquence des différentes histologies lors de la survenue d'une hypercalcémie au cours d'un lymphome non-Hodgkinien (LNH). ^aLes lymphomes/leucémies T de l'adulte rapportées par Shallis *et al.* ont été exclus de ce tableau.

1.9.2.2. Extension de l'hétopathie au diagnostic d'hypercalcémie

1.9.2.2.1. Stade Ann-Arbor

L'hypercalcémie survient plus fréquemment au cours des lymphomes de stade disséminé (**ANNEXE 9.2, Tableau VI**). Seymour *et al.* ont rapporté 20 (91%) cas de LNH disséminé parmi les 22 LNH inclus.⁴⁶ Les huit LNH inclus dans la cohorte de Majumdar étaient exclusivement des stades disséminés.⁴⁹ Ce qui a également été observé par Beaudreuil *et al.* au sein d'une série de quatre LNH transformés.⁴⁷ Enfin, Shallis *et al.* ont décrit 42 (80%) de cas de stade disséminé parmi les 54 LNH inclus.⁴³ Seymour et Gagel rapportent des stades disséminés dans 52% des LH.¹⁰⁷

1.9.2.2.2. Atteinte osseuse associée à l'hypercalcémie

L'atteinte osseuse est rarement détaillée au sein des cohortes publiées. La prévalence de l'atteinte osseuse en cas d'hypercalcémie varie de 17% à 75%.^{46,47,107} La survenue d'une hypercalcémie au sein d'une cohorte de LBDGC avec atteinte osseuse est de 8%.⁴⁹

1.9.2.3. Ligne thérapeutique associée à la survenue d'une hypercalcémie

Les descriptions des lignes thérapeutiques au moment de survenue de l'hypercalcémie sont rares, cependant, l'hypercalcémie est plus fréquemment rapportée au diagnostic (63% à 77%).^{46,49}

Références	Total lymphomes inclus	Stades III/IV, n (%)	Stade I/II, n (%)
<i>Seymour et al.</i> ⁴⁶	22	20 (91)	2 (9)
<i>Seymour et Gagel</i> ¹⁰⁷	- ^a	- ^a (52%)	- ^a (48%)
<i>Majumdar</i> ⁴⁹	8	8 (100)	0 (0)
<i>Beaudreuil et al.</i> ⁴⁷	4	4 (0)	0 (0)
<i>Shallis et al.</i> ⁴³	54 ^b	42 (78)	12 (22)
Total	88^c	74 (84%)^c	14 (16%)^c

Tableau VI : Synthèse des données issues des publications concernant l'extension lymphomateuse selon la classification de Ann Arbor lors de la survenue d'une hypercalcémie au cours d'un lymphome. ^aLes lymphomes hodgkiniens et nombres absolus de LNH ne sont pas détaillés dans cette cohorte ; ^bShallis *et al.* ont inclus 4 lymphomes/leucémies T de l'adulte ; ^c Proportion n'incluant pas Seymour et Gagel 1993.¹⁰⁷

1.10. Traitement spécifique de l'hypercalcémie maligne

L'objectif du traitement de l'hypercalcémie maligne est la normalisation de la calcémie afin d'éviter les complications cliniques menaçantes telles que les troubles du rythme cardiaque, l'insuffisance rénale aiguë et les troubles de la conscience. L'administration du sérum salé isotonique permet de corriger la déshydratation extracellulaire.^{110,146} Les bisphosphonates sont recommandés en première ligne de traitement après l'hydratation. Les molécules de choix sont le pamidronate et le zolédronate.¹¹⁰ Ils permettent, entre autre, la diminution de l'activation des ostéoclastes.¹⁴⁷ Après traitement par bisphosphonate, il a été observé 24% de rechutes et 22% de réponses incomplètes.¹⁴⁸ En cas d'hypercalcémie réfractaire aux bisphosphonates, des injections de dénosumab (inhibiteur de RANKL, indiqué pour le traitement de l'ostéoporose) ou de calcitonine peuvent être envisagées.¹¹⁰

1.11. Impact pronostic de l'hypercalcémie dans le lymphome

Une étude rétrospective de 126 patients adressés pour hypercalcémie maligne, incluant quatre (3%) lymphomes a montré une médiane de survie globale (SG) à 60 jours. La survie d'une population incluant 88 patients suivis pour un cancer dont quatre (4,5%) lymphomes met en évidence une SG entre 24% et 30% à 12 mois comparée à 71% de survie au sein d'une

population non-hypercalcémique (n=7667).⁴¹ Une étude de registre des cancers aux Etats-Unis rapporte une SG à 11 mois de 7388 patients [dont 596 (8%) LNH] (**Tableau VII**).³⁷

L'étude rétrospective de 17 patients atteints d'une hémopathie avec hypercalcémie a mis en évidence une SG médiane de 72 jours. Il faut noter que tous avaient une élévation de la PTHrP et uniquement cinq patients étaient atteints d'un LNH (**Tableau VII**).⁴⁵

Dans une autre série de huit patients suivis pour un lymphome, tous étaient décédés à 12.⁵⁰ Une étude rétrospective de patients atteints de LBDGC avec atteinte osseuse et hypercalcémie a mis en évidence une SG à 2 ans de 35%, elle était significativement inférieure à celle des patients sans hypercalcémie.⁴⁸ L'analyse de survie menée sur une population de 54 LNH, sans envahissement osseux incluant quatre (7,4%) ATLL, a montré une médiane de SG à 10,6 mois en cas d'élévation du calcitriol et 40,4 mois en l'absence d'élévation du calcitriol (**Tableau VII**).⁴³

Populations étudiées	Références	Médiane de SG	Survie Globale
Population de cancers solides incluant des lymphomes	<i>Ralston et al.</i> ³⁹	60 jours	-
	<i>Vassilopoulou et al.</i> ⁴¹	-	24 à 30% à 1 an
	<i>Gastanaga et al.</i> ³⁷	11 mois	-
Population d'hémopathies malignes incluant des lymphomes	<i>Jin et al.</i> ^{45 a}	72 jours	20 % à 1 an
Population de lymphomes exclusivement	<i>Majumdar</i> ⁴⁹	9 mois	0% à 2 ans
	<i>Lehners</i> ^{48 b}	< 12 mois	35% à 2 ans
	<i>Shallis et al.</i> ^{43 c}	10 à 40 mois	-

Tableau VII : Synthèse des données issues des publications concernant la survie globale (SG) après la survenue d'une hypercalcémie au cours d'un lymphome. ^aHypercalcémies uniquement liées à une synthèse de PTHrP ; ^binclusion de lymphomes B diffus à grandes cellules avec atteinte osseuse ; ^cinclusion de leucémies/lymphomes à cellules T de l'adulte.

2. OBJECTIFS

Les objectifs de ce travail sont :

- i. Décrire les caractéristiques des lymphomes compliqués d'une hypercalcémie
- ii. Evaluer l'impact pronostic de la survenue d'une hypercalcémie au cours d'un lymphome
- iii. Evaluer l'intérêt d'une stratégie de chimiothérapie intensive et autogreffe de CSH (ASCT) en cas de survenue d'une hypercalcémie

3. METHODOLOGIE SUIVIE

Les caractéristiques des lymphomes compliqués d'une hypercalcémie ont été étudiées à partir d'une cohorte rétrospective monocentrique du CHRU de Tours.

Pour évaluer l'impact de la survenue d'une hypercalcémie sur la survie et la rechute, le groupe de patients atteints de lymphome avec hypercalcémie a été comparé à un groupe contrôle de patients similaires sur le plan des facteurs pronostics du lymphome.

Afin d'évaluer l'impact des stratégies d'intensification thérapeutique, nous avons porté une attention particulière aux sujets des patients éligibles aux stratégies thérapeutiques d'ASCT.

Enfin, en l'absence de publications ayant suivi une méthodologie comparable, nous avons étudié une cohorte de cas rapportés issus des cas cliniques indexés sur PubMed entre 1996 et 2016 dans le but d'évaluer la validité externe des résultats de notre étude rétrospective.

4. ETUDE RETROSPECTIVE AU CHRU DE TOURS

4.1.Méthode

4.1.1. Définition de l'hypercalcémie

Au CHRU de Tours, la limite supérieure de la calcémie (tCa) est de 2,60 mM. La calcémie a été évaluée par méthode colorimétrique (Olympus. AU 2700 and Roche/Hitachi. cobas c) puis corrigée avec l'sAlbumine en utilisant la formule suivante $cCa \text{ (mM)} = tCa \text{ (mM)} + 0,025[40 - sAlbumine(g/L)]$.

4.1.2. Sélection de la cohorte d'hypercalcémie et de la cohorte de contrôle

Les dossiers de patients adultes immunocompétents diagnostiqués d'un lymphome entre 2000 et 2016, ont été revus. Les patients éligibles ont été identifiés par la recherche des mots-clefs « hypercalcémie » et « lymphome » ou « Hodgkin » au sein d'une base de courriers médicaux. Ceux présentant au moins un évènement d'hypercalcémie étaient inclus dans la cohorte d'hypercalcémie. Les critères de non-inclusion dans le groupe d'hypercalcémie étaient : l'absence d'hypercalcémie, un autre diagnostic de cancer évolutif, une autre cause d'hypercalcémie telle qu'une hyperparathyroïdie, une granulomatose, une tuberculose et un traitement hypercalcémiant (diurétiques thiazidiques et vitamine D, notamment).

Les patients inclus dans la cohorte de contrôle étaient des patients adultes immunocompétents diagnostiqués d'un lymphome sans évènements d'hypercalcémie. Les patients inclus dans cette cohorte de contrôle étaient sélectionnés pour être appariés avec les caractéristiques au diagnostic suivantes : le sexe, l'âge, l'histologie, le stade Ann Arbor (I/II ou III/IV), le taux de LDH (normal ou supérieur à la norme du laboratoire), la ligne thérapeutique au moment de l'hypercalcémie. Nous avons l'intention d'apparier un patient de la cohorte d'hypercalcémie avec deux patients de la cohorte de contrôle.

4.1.3. Données collectées

4.1.3.1. Caractéristiques cliniques et radiologiques

Le sexe, l'âge à l'inclusion et au diagnostic, l'année à l'inclusion et au diagnostic, le type d'histologie (avec la précision pour les LBDGC de la nature *de novo* ou secondaire de transformation et la preuve d'une translocation double-hit), le stade de Ann Arbor, le nombre et la localisation des atteintes extra-ganglionnaires, le taux de LDH, les scores pronostiques (IPI, FLIPI ou Hasenclever), le nombre de lignes de traitement à l'inclusion et les traitements reçus ont été collectés.

A noter que l'atteinte osseuse a été définie par une fracture ou une localisation osseuse objectivée par tomodensitométrie (TDM) et/ou PET-TDM.

4.1.3.2. Caractéristiques biologiques

Les valeurs de tCa (la tCa maximum), des protides, de l'albumine, des bicarbonates (mM), des phosphates (sPh), de la protéine C réactive (CRP), de la concentration de la PTH, du calcitriol, de la 25-hydroxyvitamine D, et de la calcémie ionisée ont été recueillies. L'insuffisance rénale a été définie par une augmentation de la créatininémie de 1,5 fois la valeur de base du patient.

4.1.3.3. Traitements reçus

L'administration de bisphosphonate au moment de l'hypercalcémie, la ligne de traitement à l'inclusion, le protocole de chimiothérapie, l'intention de traitement par ASCT, le traitement par ASCT et le type de conditionnement ont été recueillis.

4.1.3.4. Devenir

La date de la première progression après l'inclusion, la date des dernières nouvelles, le statut du patient aux dernières nouvelles, et les causes de mortalité ont été recueillis.

4.1.3.5. Evaluation du score pronostic

Le score IPI¹⁵ a été utilisé pour l'ensemble des lymphomes excepté les LF et LH pour lesquels le FLIPI²⁵ et le score de Hasenclever²⁹ ont été utilisés, respectivement (**ANNEXE 9.3**).

4.1.4. Analyse statistique

L'objectif principal était la comparaison de la SG entre la cohorte d'hypercalcémie et de contrôle. La SG était définie par le temps entre l'inclusion et le décès. Le suivi a été censuré à 120 mois. Les objectifs secondaires étaient : (i) la SSP, définie par le temps entre l'inclusion et la rechute ou la progression (définie par une nouvelle ligne de chimiothérapie) ou le décès ; (ii) la SG des patients ayant reçu une ASCT. Le devenir dans un contexte d'ASCT a été étudié en intention de traiter afin d'éviter les biais par des événements concurrents tels que le décès ou la rechute.

L'analyse de la SG et SSP a été réalisée par la méthode de Kaplan-Meier. Le test du log-rank a été utilisé pour les comparaisons de survie. Pour l'analyse univariée et multivariée, le modèle de régression de Cox pour analyse avec variable dépendante du temps a été utilisé. La méthode de régression pas-à-pas descendante a été utilisée pour l'identification du meilleur modèle prédictif de SG dans l'analyse multivariée (probabilités à l'entrée et d'exclusion étaient définies à 0,10 et 0,05, respectivement).

Les données ont été décrites en proportion ou en médiane avec l'intervalle interquartile (IQR : 25%-75%) ou intervalle de confiance à 95% (IC95%). Les comparaisons entre les variables continues ont été réalisées par le test de Student (t-test) ou le test non-paramétrique de Mann-Whitney. Les variables catégorielles ont été comparées par un test du Chi-2 ou un test exact de Fisher.

Le risque alpha a été défini à 0,05.

L'ensemble des tests statistiques a été réalisé à l'aide d'un logiciel dédié (SPSS), excepté le test de Fine and Gray pour la comparaison de la SSP prenant en compte les risques compétitifs dans le contexte d'ASCT qui a été réalisé en utilisant le logiciel R.^{149,150}

4.1.5. Soumission du projet au groupe éthique d'aide à la recherche clinique

En raison du caractère non interventionnel de cette étude, le projet a été soumis le 30/08/2017 au groupe éthique d'aide à la recherche. Un avis favorable a été rendu le 03/11/2017 (ANNEXE 9.5).

4.2. Résultats

4.2.1. Identification des patients inclus dans l'étude rétrospective

Parmi les 4305 patients pris en charge au CHRU de Tours pour un lymphome entre 2000 et 2016, 98 patients ayant une hypercalcémie ont été identifiés. Trente-six patients n'ont pas été inclus en raison d'une hyperparathyroïdie primaire (=15) ; d'une autre hémopathie maligne évolutive (n=15), d'une tumeur maligne évolutive (n=2), des données manquantes ne permettant pas de conclure sur la liaison de l'hypercalcémie au lymphome (n=2), d'une suspicion de tuberculose (n=1), d'un excès d'apport en calcium (n=1). Soixante-deux patients ont donc été inclus dans la cohorte d'hypercalcémie.

Après appariement selon les critères définis ci-dessus, 118 patients ont été inclus dans la cohorte de contrôle. A noter que 56 (90,3%) des patients hypercalcémiques ont été appariés avec 112 patients contrôles (ratio 2/1) et 6 (9,7%) avec 6 patients contrôles (ratio 1/1) (**Figure 14**).

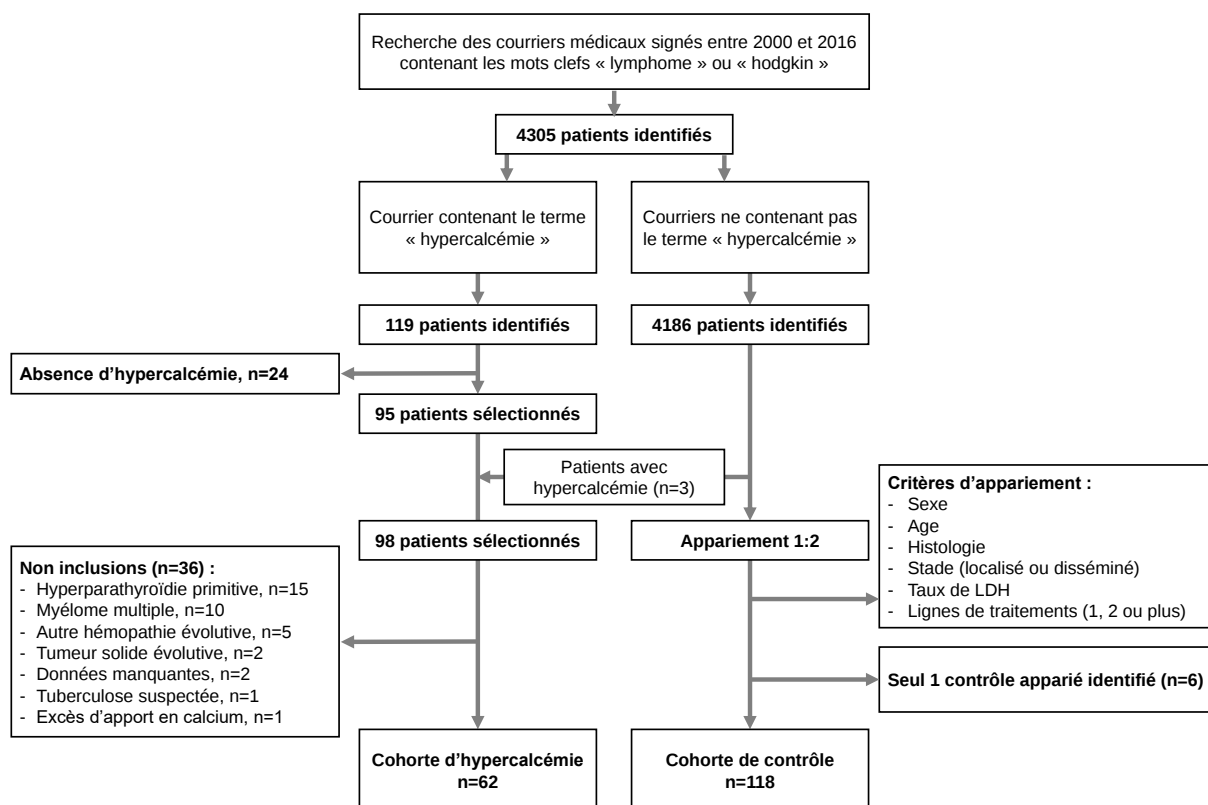


Figure 14 : Diagramme de flux des inclusions dans l'étude rétrospective.

4.2.2. Caractéristiques de la population étudiée

Les caractéristiques des cohortes d'hypercalcémie et de contrôle sont résumées dans le **Tableau VIII**. Brièvement, 23 (37,1%) et 43 (36,4%) patients étaient de sexe féminin dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle, respectivement ($p=0,93$). L'âge médian à l'inclusion était de 65,5 (IQR : 56,0-72,3) et 66,0 (IQR : 54,0-72,0) ans, respectivement ($p=0,63$).

Le LBDGC était la principale histologie [42 (67,7%) et 83 (70,3%) patients, respectivement ($p=0,94$)], dont dix (16,1%) et 20 (16,9%) étaient suspects de transformation à partir d'un lymphome de bas grade, respectivement ($p=0,97$). La transformation a été confirmée chez huit (80%) et 12 (60%) des patients, respectivement ($p=0,49$) et des translocations de type double-hit ont été retrouvées chez deux (5,1%) et trois (3,8%) patients, respectivement ($p=1,00$).

Le nombre d'atteintes extra-ganglionnaire était comparable entre les deux cohortes, 49 (79,0%) et 89 (75,4%) patients, respectivement ($p=0,48$). A noter que 23 (37,1%) et 24 (20,3%) patients avaient une atteinte osseuse radiologique, respectivement ($p=0,02$). Les deux cohortes étaient comparables pour l'atteinte du système nerveux central (SNC) et des gonades ($p=0,39$ et $p=0,57$, respectivement) (**Tableau IX**).

	Cohorte hypercalcémie	Cohorte contrôle	p- value
Nombre de patients	62	118	-
Sexe, féminin, n (%)	23 (37,1)	43 (36,4)	0,93
cCa (mM) Médiane (IQR: 25%-75%)	3,15 (2,83-3,44)	2,33 (2,28-2,41) ^a	<10 ⁻³
Age (années) Médiane (IQR: 25%-75%) ≤ 65 ans, n (%)	65,5 (56,0-72,3) 31 (50,0)	66,0 (54,0-72,0) 58 (49,2)	0,63 0,91
Histologie à l'inclusion, n (%) Haut grade ^b	48 (77,4)	94 (79,7)	0,73
Détail histologie à l'inclusion, n(%) LBDGC Lymphome folliculaire Lymphome à cellules du manteau Lymphome de la zone marginale Lymphome de Burkitt Lymphome lymphoplasmocytaire Lymphome lymphocytaire Lymphome à cellule T Lymphome de Hodgkin	42 (67,7) 7 (11,3) 2 (3,2) 3 (4,8) 2 (3,2) 1 (1,6) 1 (1,6) 2 (3,2) 2 (3,2)	83 (70,3) 12 (10,2) 3 (2,5) 4 (3,4) 4 (3,4) 2 (1,7) 2 (1,7) 4 (3,4) 4 (3,4)	0,94 ^a
Stade à l'inclusion, n (%) Stade III/IV	57 (91,9)	109 (92,4)	1,00
Atteinte extra-nodale, n (%) 0 1 2 ≥3	13 (21,0) 23 (37,1) 14 (22,6) 12 (19,4)	29 (24,6) 49 (41,5) 27 (22,9) 13 (11,0)	0,49
LDH élevées à l'inclusion, n (%)	56 (90,3)	106 (89,8)	0,92
Scores pronostic, n (%) Haut risque^c LBDGC IPI ≥ 3 Lymphome folliculaire FLIPI ≥ 3	47 (75,8) 31 (73,8) 6 (85,7)	85 (72,0) 59 (71,1) 10 (83,3)	0,59 0,75 1,00
Lignes de traitement à l'inclusion, n (%) 1 2 ≥3	44 (71,0) 11 (17,7) 7 (11,3)	85 (72,0) 20 (16,9) 13 (11,0)	0,99

Tableau VIII : Caractéristiques principales des deux cohortes de l'étude rétrospective. cCa : calcémie corrigée ; IQR : intervalle interquartile ; LDH: lactate déshydrogénase ; LBDGC : lymphome B diffus à grande cellules ; ^aLes histologies avec moins de 5 patients ont été groupées pour l'analyse statistique ; ^bLymphome de Burkitt, LBDGC, lymphome à cellules T et à cellules du manteau ont été définis comme haut grade ; ^cHaut-risque a été défini par un score *international prognosis index* (IPI)≥3, un score *follicular lymphoma* IPI (FLIPI)≥3 ou un score Hasenclever≥3.

	Cohorte hypercalcémie	Cohorte contrôle	p-value
Nombre de patients	62	118	-
Nombre d'atteinte extra-ganglionnaire, n (%)			0,49
0	13 (21,0)	29 (24,6)	
1	23 (37,1)	49 (41,5)	
2	14 (22,6)	27 (22,9)	
≥3	12 (19,4)	13 (11,0)	
Localisations des atteintes extra-ganglionnaires, n (%)			
Os	23 (37,1)	24 (20,3)	0,02
Moelle osseuse	23 (37,1)	32 (27,1)	0,17
Système nerveux central	6 (9,7)	6 (5,1)	0,39
Gonades	4 (6,5)	4 (3,4)	0,57

Tableau IX : Caractéristiques de l'envahissement extra-ganglionnaire des patients inclus dans l'étude rétrospective.

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les périodes d'inclusion, avant et après 2008. Chaque cohorte a inclus respectivement 28 (45,2%) et 39 (33,1%) patients entre 2000 et 2008, et 34 (54,8%) et 79 (66,9%) patients de 2009 à 2016 (p=0,11).

Le **Tableau X** détaille les lignes thérapeutiques administrées. Il n'y avait pas de différence statistique entre les lignes thérapeutiques dans chaque groupe. Le Rituximab a été administré chez 50 (80,6%) et 93 (78,8%) patients, respectivement (p=0,77). En première ligne, 43 (69,4%) et 84 (71,2%) patients ont reçu un traitement incluant des anthracyclines, respectivement (p=0,77). Parmi les 34 et 55 patients des cohortes d'hypercalcémie et de contrôle ayant reçu une deuxième ligne de traitement, 17 (50%) et 24 (46,2%) patients ont reçu un traitement incluant des sels de platine, respectivement (p>0,99). Enfin, parmi les 22 et 32 patients éligibles à une ASCT, 15 (68,2%) et 23 (78,1%) ont reçu une ASCT, respectivement (p=0,41).

	Cohorte hypercalcémie	Cohorte contrôle	p- value
Nombre de patients inclus	62	118	-
Première ligne, n (%) n Anthracycline Type CHOP Autre Intensifié ^a Autre traitement curatif Palliatif	62 43 (69,4) 39 (90,7) 4 (9,3) 5 (8,1) 9 (14,5) 5 (8,1)	118 84 (71,2) 78 (92,9) 6 (7,1) 7 (5,9) 21 (17,8) 6 (5,1)	0,77 ^d
Deuxième ligne, n (%) n Anthracycline Type CHOP Platine Type DHAP Cytarabine Autre traitement curatif Palliatif	34 6 (17,6) 3 (50,0) 17 (50,0) 15 (88,2) 2 (5,9) 7 (20,6) 2 (5,9)	52 8 (15,4) 4 (50,0) 24 (46,2) 23 (95,8) 1 (1,9) 15 (28,8) 4 (7,7)	1,00 ^d
Troisième ligne, n (%) n Anthracycline Platine Autre traitement curatif Palliatif	18 4 (22,2) 7 (38,9) 4 (22,2) 3 (15,8)	25 2 (8,0) 9 (36,0) 10 (40,0) 4 (16,0)	1,00 ^d
Intensification et ASCT, n (%) Éligibles^b Ont reçu l'ASCT Ligne de traitement à l'ASCT, médiane (min-max)	22 (35,5) 15 (68,2) 1 (1-2)	32 (27,9) 25 (78,1) 1 (1-6)	NA 0,41 0,23
Ont reçu une alloCSH	2 (3,2)	2 (2,5)	NA
Ont reçu du Rituximab n/N, (%) n/N ^c , (%)	50/62 (80,6) 50/58 (86,2)	93/118 (78,8) 93/110 (84,5)	0,77 0,77

Tableau X : Traitements spécifiques administrés aux patients des 2 cohortes de l'étude rétrospective.

^aCOPADEM (Voog *et al.* Leukemia & Lymphoma. 2000;36;525-532) ; ^bLes patients éligibles étaient les patients de moins de 66 ans avec un projet d'intensification et autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (ASCT) par le clinicien ; ^cCensuré pour les lymphomes de Hodgkin et à cellules T ; ^dTous les traitements curatifs ont été regroupés pour l'analyse statistique.

4.2.3. Caractéristiques biologiques à l'inclusion

Les concentrations médianes de tCa et cCa à l'inclusion étaient de 2,97 (IQR : 2,76-3,34) et 3,17 (IQR : 2,79-3,45) mM dans la cohorte d'hypercalcémie, respectivement. Les concentrations de sAlbumine étaient inférieures dans le groupe d'hypercalcémie [médiane à

33,9 (IQR : 30,0-37,0) g/L contre 38,0 (IQR : 32,5-42,0) g/L, $p=0,002$]. La médiane de concentration de CRP était supérieure dans le groupe d'hypercalcémie [37,3 mg/L (17,0-90,1) contre 11,1 mg/L (3,6-39,8), respectivement, $p=0,004$].

Les concentrations de CRP et de sAlbumine étaient comparables entre les groupes de patients à bas risque et haut risque du lymphome à la fois dans le groupe d'hypercalcémie et le groupe de contrôle. Les médianes de concentration de CRP étaient 11,0 mg/L (IQR : 3,5-50,3) et 21,3 mg/L (IQR : 7,6-63,9), respectivement ($p=0,11$). Les médianes de concentration de sAlbumine étaient 36,5 g/L (IQR : 33,6-41,3) et 36,0 g/L (IQR : 31,0-40,0), respectivement ($p=0,17$).

Dans la cohorte d'hypercalcémie, le taux de sPh était mesuré chez 57 patients. Le taux de sPh était supérieur et inférieur aux valeurs normales du laboratoire chez 11 (19,3%) et 4 (7,1%) patients, respectivement. Le calcitriol et la PTHrP ont été dosés chez sept (11,3%) (dont 3 patients avaient une augmentation du taux de calcitriol) et un (2%) patient (pour lequel le taux de PTHrP était indétectable) (**Tableau XI**).

	Norme du laboratoire	Cohorte hypercalcémie	Cohorte contrôle	p-value
Albumine sérique^a Médiane (IQR:25%-75%) < 35 g/L, n (%)	40-50 g/L	33,9 (30,0-38,0) 31 (50,0)	38,0 (32,5-42,0) 33 (28)	0,002 0,003
Protéine C réactive^b Médiane (IQR:25%-75%) > 10 mg/L, n (%)	< 6 mg/L	37,3 (17,0-90,1) 56 (90,3)	11,1 (3,6-39,8) 66 (55,9)	0,004 <10 ⁻³
Protides sériques^c Médiane (IQR:25%-75%)	65-80 g/L	60,0 (55,5-66,3)	64,0 (58,0-69,0)	0,361
Bicarbonate sérique^d Médiane (IQR:25%-75%)	21-31 mM	28,0 (25,0-30,0)	27,0 (25,0-28,0)	0,487
Phosphate sérique^e Médiane (IQR:25%-75%)	0,8- 1,45 mM	1,24 (1,00-1,40)	1,13 (1,00-1,28)	0,118

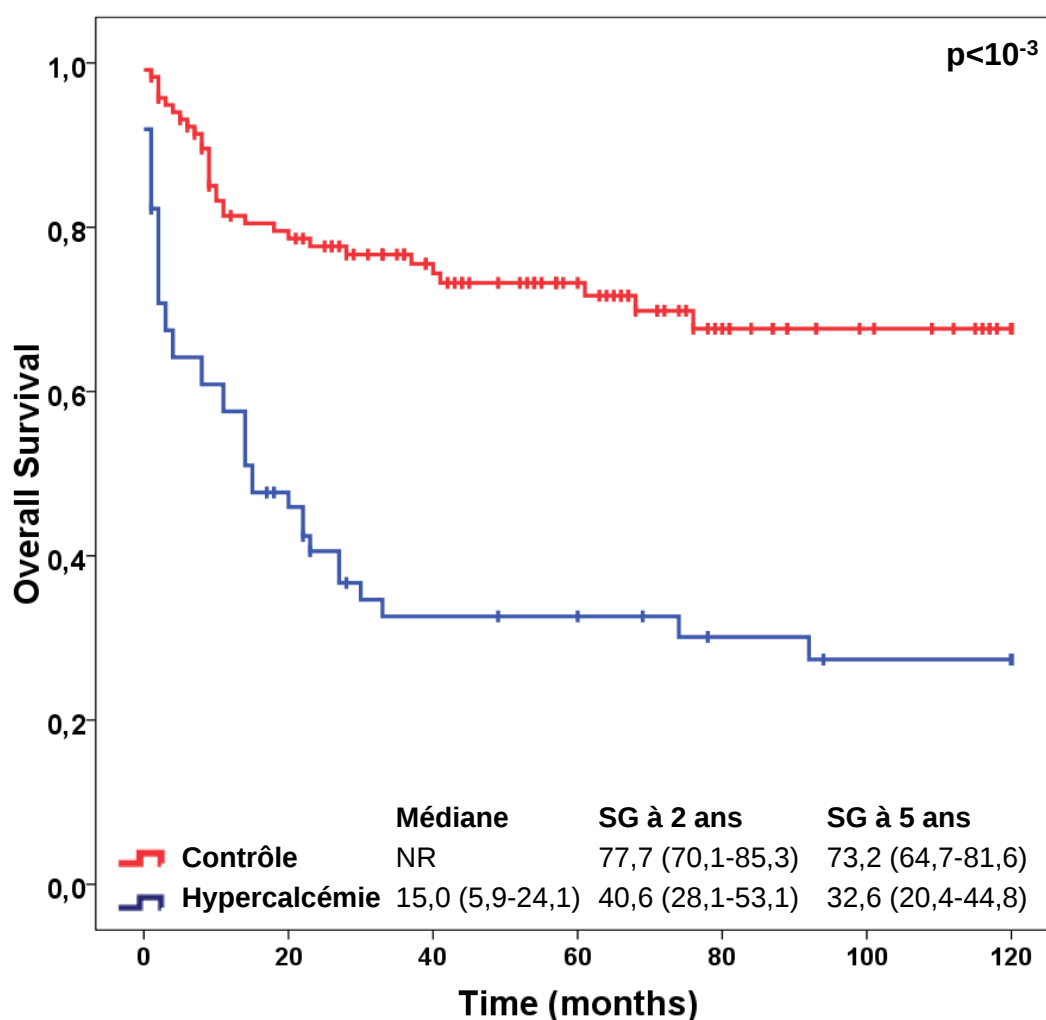
Tableau XI : Caractéristiques biologiques des patients inclus dans les deux cohortes. ^aDonnées manquantes chez 2 patients contrôles, ^b6 et 5 patients ^c5 et 3 patients ^d9 et 3 patients ^e7 et 5 patients dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle, respectivement.

4.2.4. Complications et traitements de l'hypercalcémie

Dans la cohorte d'hypercalcémie, l'insuffisance rénale aiguë à l'inclusion a été observée chez 29 (46,8%) patients. Les données concernant la fonction rénale au moment de l'hypercalcémie étaient manquantes chez sept (11,3%) patients. Des bisphosphonates ont été administrés chez 48 (81,4%) patients. Toutes les hypercalcémies et les insuffisances rénales aiguës étaient réversibles après la réhydratation et le traitement spécifique du lymphome.

4.2.5. Analyse de la survie globale

Les temps de suivi médian étaient de 14,5 (IQR : 2,0-51,75) et 44,5 (IQR : 2,0-78,3) mois dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle, respectivement. Les SG à 2 ans étaient de 40,6% [intervalle de confiance (IC) à 95%=28,1-53,1] et 77,7% (IC95%=70,1-85,3), respectivement ($p<10^{-3}$). La médiane de survie globale était atteinte uniquement dans la cohorte d'hypercalcémie, elle était de 15 mois (IC95% : 5,9-24,1) (**Figure 15**).



Sujets à risque

Contrôles	118	85	64	47	27	16	8
Hypercalcémies	62	27	16	15	11	9	9

Figure 15 : Survie globale (SG) à partir de l'inclusion des patients dans les cohortes de contrôle et d'hypercalcémie. Les médianes sont exprimées en mois [intervalle de confiance à 95% (IC95%)], les SG sont exprimées en % (IC95%).

Parmi les 44 (71%) et 85 (72%) patients inclus au diagnostic dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle, la SG à 2 ans était de 48,6% (IC95%=33,5-63,7) et 79,5% (IC95%=70,9-88,1), respectivement ($p<10^{-3}$) (**Figure 16A**). Parmi les 18 (29%) et 33 (28%) patients inclus en

rechute ou réfractaire, la SG à 2 ans était de 20,8% (IC95%=1,4-40,2) et 72,6% (IC95%=56,3-88,9), respectivement ($p<10^{-3}$) (**Figure 16B**).

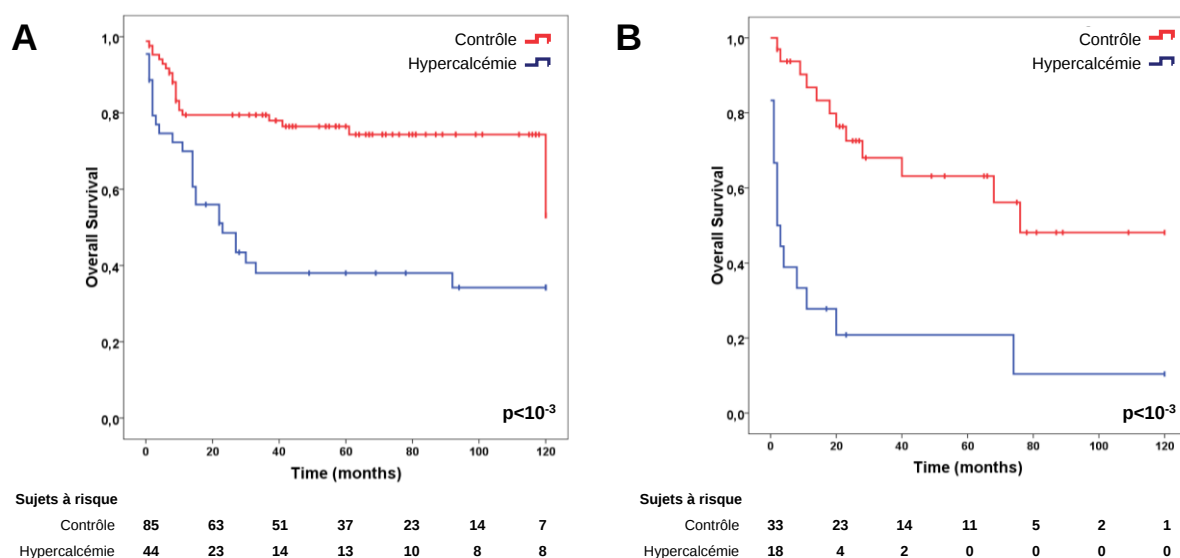


Figure 16 : Survie globale (SG) à partir de l'inclusion des patients dans les cohortes de contrôle et d'hypercalcémie dans les sous-groupes de lignes thérapeutiques à l'inclusion. (A) inclusion au diagnostic (1^{ère} ligne thérapeutique) et (B) inclusion rechute/réfractaire (≥ 2 lignes thérapeutiques).

Parmi les 42 (67,7%) et 83 (70,3%) LBDGCL, la SG à 2 ans était inférieure dans la cohorte d'hypercalcémie comparée à la cohorte de contrôle ; 37,5% (IC95%=22,6-52,4) contre 75,9% (IC95%=66,5-85,3), respectivement ($p<10^{-3}$) (**Figure 17A**). Dans le sous-groupe de LF, la SG à 2 ans était inférieure dans la cohorte d'hypercalcémie (n=7, 11,3%) comparée à la cohorte de contrôle (n=12, 10,2%) : 33,3% (IC95%=0-71,0) contre 83,3% (IC95%=53,5-100), respectivement ($p=0,001$) (**Figure 17B**).

4.2.6. Cause de mortalité

Dans la cohorte d'hypercalcémie et de contrôle, 42 (67,7%) et 34 (28,8%) patients sont décédés, respectivement. Le lymphome était la cause principale de la mortalité : 37 (88,1%) et 22 (64,7%), respectivement ($p=0,02$). L'infection était la cause de mortalité chez un (2,4%) patient dans la cohorte d'hypercalcémie et six (17,6%) patients dans la cohorte de contrôle. Les autres causes de mortalité sont résumées dans le **Tableau XII**.

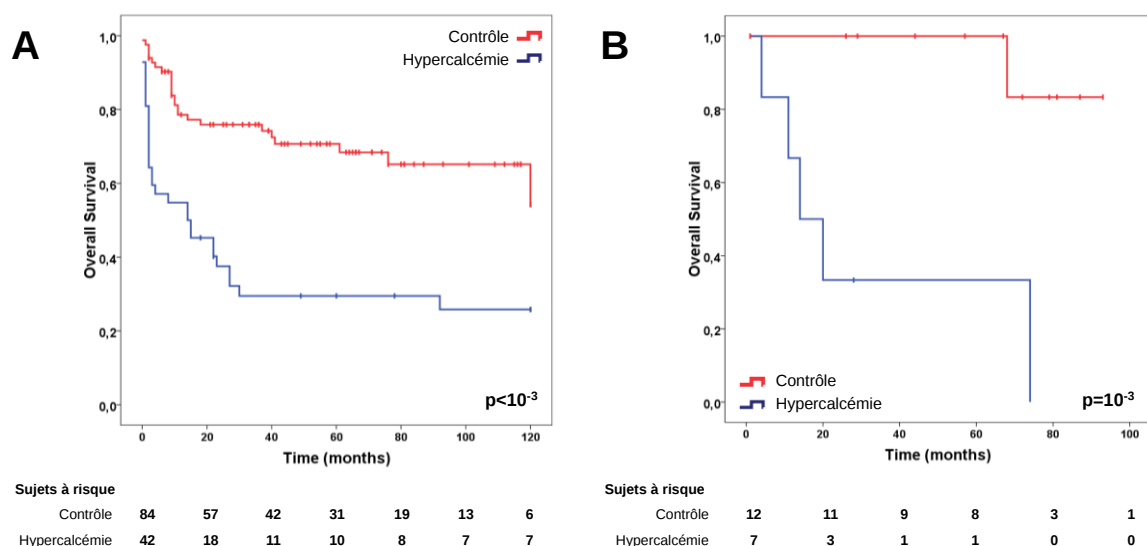


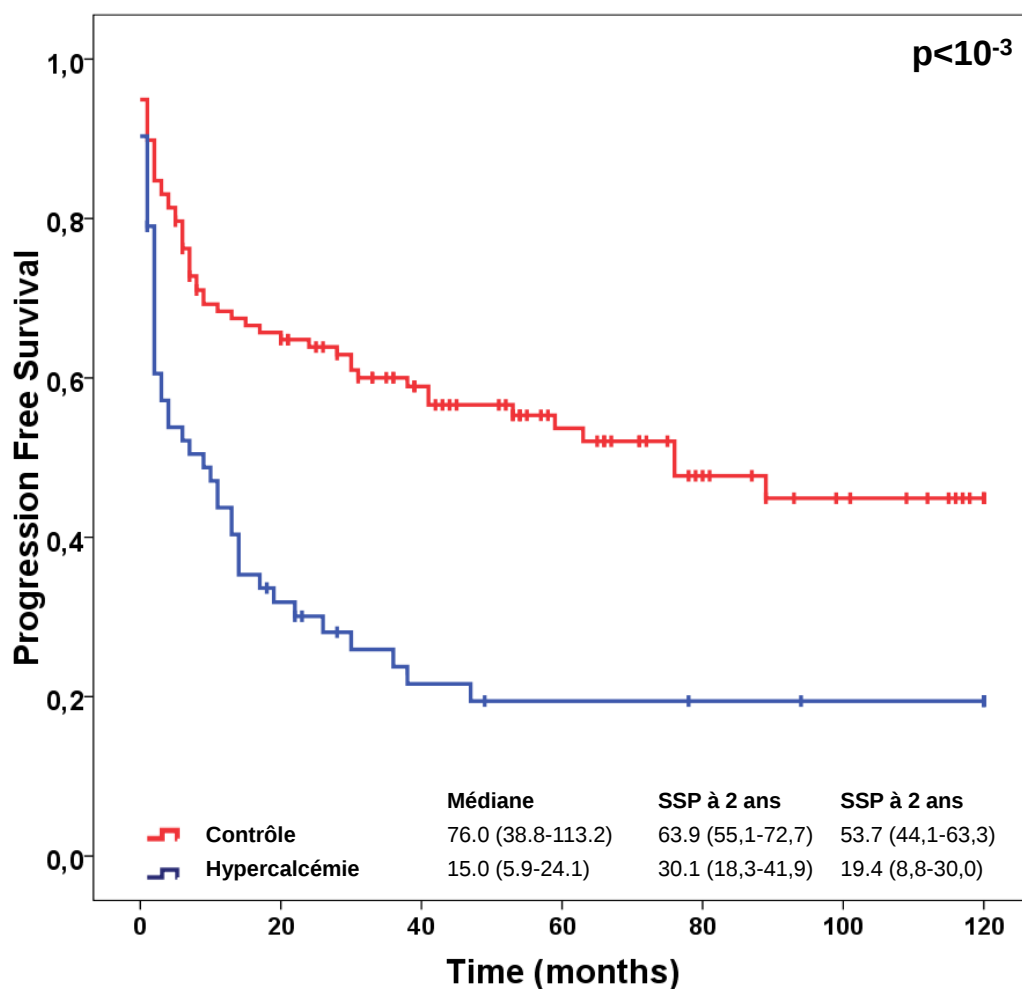
Figure 17 : Survie globale à partir de l'inclusion des patients dans les cohortes de contrôle et d'hypercalcémie dans les sous-groupes histologiques. (A) Lymphomes B diffus à grande cellules et (B) Lymphomes folliculaires.

	Cohorte hypercalcémie	Cohorte contrôle	p-value
n	62	118	-
Décès, n (%)	42 (67,7)	34 (28,8)	-
Cause du décès, n (%)			0,02 ^a
Lié au lymphome	37 (88,1)	22 (64,7)	
Autre	5 (11,9)	12 (35,3)	
Infection	1 (2,4)	6 (17,6)	
Second cancer	0 (0)	3 (8,8)	
AVC hémorragique	0 (0)	1 (2,9)	
Non connue	4 (9,5)	2 (5,9)	

Tableau XII : Cause de décès dans les deux cohortes de l'étude rétrospective. AVC : accident vasculaire cérébral. ^aL'analyse statistique a comparé les causes de décès liées au lymphome à l'ensemble des autres causes de mortalité.

4.2.7. Analyse de survie sans progression

La SSP à 2 ans était inférieure dans la cohorte d'hypercalcémie par rapport à la cohorte de contrôle, 30,1% (IC95%=18,3-41,9) contre 63,9% (IC95%=55,1-72,7), respectivement ($p < 10^{-3}$) (**Figure 18**). La SSP à 2 ans était inférieure dans la cohorte d'hypercalcémie par rapport à la cohorte de contrôle, au sein du sous-groupe de LBDGC, 29,1% (IC95%=15,0-43,2) contre 63,5% (IC95%=53,1-73,9), respectivement ($p < 10^{-3}$). Cependant, la SSP à 2 ans du sous-groupe LF n'était pas statistiquement différente entre les 2 cohortes : 34,3% (IC95%=0-72,5) contre 58,3% (IC95%=30,5-86,1), respectivement.



Sujets à risque

Contrôle	118	74	51	33	20	13	6
Hypercalcémie	62	18	10	8	7	6	6

Figure 18 : Survie sans progression (SSP) de l'ensemble des patients inclus dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle. Les médianes sont exprimées en mois [intervalle de confiance (IC) à 95%], les SG sont exprimées en pourcentage (IC95%).

4.2.8. Survie après intensification et autogreffe de CSH

Parmi les 62 et 118 patients inclus dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle, 22 (35,5%) et 32 (27,1%) patients étaient âgés de moins de 66 ans et considérés éligibles à une ASCT par leur praticien référent, respectivement. L'âge médian de ces patients à l'inclusion était de 55,0 (IQR : 44,5-61,3) et 56,5 (IQR : 49,3-61,8) ans, respectivement ($p=0,56$). Dix-huit (81,8%) et 29 (90,6%) patients étaient suivis pour un lymphome de haut grade ($p=0,43$), 21 (95,5%) et 31 (97,0%) étaient diagnostiqués à un stade avancé, respectivement ($p=1,00$).

Avant de recevoir l'ASCT, un (4,5%) et deux (6,1%) patients sont décédés dans chaque groupe, six (27,3%) et cinq (18,2%) patients ont progressé dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle, respectivement ($p=0,81$ et $p=0,64$). Finalement, 15 (68,2%) et 25 (78,1%) patients ont

reçu l'ASCT, respectivement ($p=0,41$). L'âge médian à la transplantation était de 53,0 (IQR : 40,0-61,0) et 55,0 (IQR : 50,0-61,0) ans, respectivement ($p=0,39$) (**Tableau XIII**).

	Cohorte Hypercalcémie	Cohorte contrôle	p-value
Patients éligibles, n	22	33	
Age à l'inclusion (années), médiane (IQR:25-75)	55,0 (44,5-61,3)	57,0 (45,0-61,0)	0,53
Histologie, Haut grade^a	18 (81,8)	30 (90,9)	0,42
Stade à l'inclusion, n (%) Stade III/IV	21 (95,5)	32 (97,0)	1,00
A reçu l'ASCT, n (%)	15 (68,2)	26 (78,8)	0,38
Causes empêchant l'ASCT			
Décès, n (%)	1 (4,5)	2 (6,1)	0,81
Rechute, n (%)	6 (27,3)	5 (18,2)	0,64

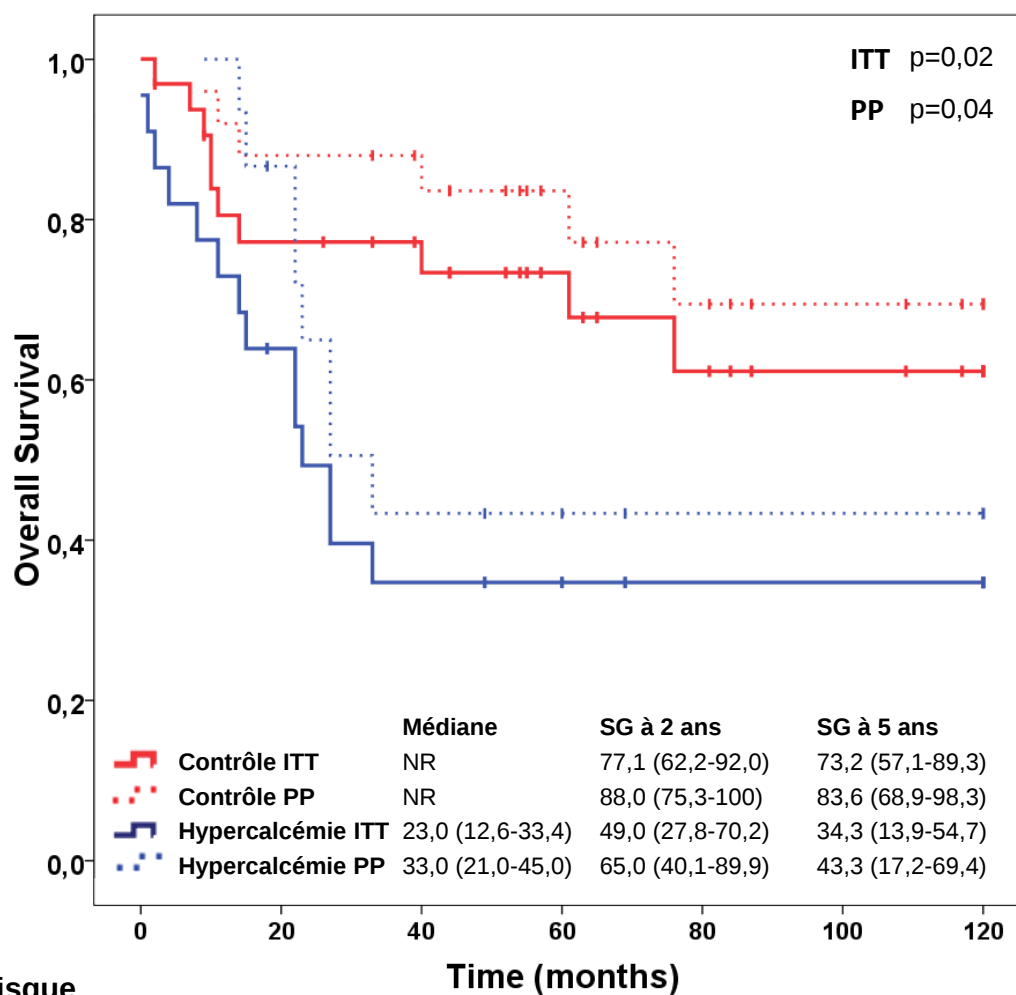
Tableau XIII : Caractéristiques des patients inclus dans l'analyse d'intensification et autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (ASCT). ^aLymphome de Burkitt, LBDGC, lymphome à cellules T et à cellules du manteau ont été définis comme haut grade.

Le conditionnement reçu était de type BEAM pour 14 (93,3%) et 23 (92,0%) patients dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle, respectivement ($p=1,00$). Les autres patients ont reçu un conditionnement par irradiation corporelle totale et cyclophosphamide.

Le suivi médian pour les patients analysés en intention de traiter (ITT) était 22,5 (IQR: 10,3-62,3) et 53,0 (IQR : 11,8-83,3) mois dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle, respectivement. La SG à 2 ans de la population en ITT était de 49,0% (IC95%=27,8-70,2) et 77,0% (IC95%=62,1-91,9), respectivement ($p=0,02$) (**Figure 19**).

Le suivi médian pour les patients ayant finalement reçu l'ASCT (PP) était 27,0 (IQR : 22,0-69,0) et 61,0 (IQR : 42,0-98,0) mois, respectivement. La SG à 2 ans de cette population était de 65% (IC95%=40,1-89,9) contre 88,0% (IC95%=75,3-100), respectivement ($p=0,04$) (**Figure 19**).

La SSP à 2 ans, en intention de traiter, n'était pas statistiquement différente entre les 2 cohortes : 56,2% (IC95%=29,7-82,7) contre 80,0% (IC95%=64,3-98,7), respectivement ($p=0,14$). Un patient à risque de rechute de chaque groupe est décédé. Nous avons donc évalué la fonction d'incidence cumulative (FIC) de la rechute ajustée au risque de décès avec le test de Fine et Gray. La FIC de rechute ajustée était de 48,3% (IC95%=20,7-75,9) et 29,8% (IC95%=10,2-49,4) dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle, respectivement ($p=0,21$) (**Figure 20**). Parmi les 14 rechutes dans le groupe de patients ayant reçu l'ASCT, seuls 2 étaient en vie aux dernières nouvelles, ils étaient inclus dans la cohorte de contrôle.



Sujets à risque

	Time (months)						
Contrôle ITT	32	22	19	12	8	5	3
Contrôle PP	25	11	5	4	2	2	2
HCa ITT	22	13	7	6	4	4	4
HCa PP	15	22	20	13	9	6	4

Figure 19 : Survie globale à partir de l'inclusion des patients éligibles (ITT) et ayant reçu une intensification et autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (PP) inclus dans les cohortes d'hypercalcémie et de contrôle. Les médianes sont exprimées en mois [intervalle de confiance (IC) à 95%], les SG sont exprimées en pourcentage (IC95%).

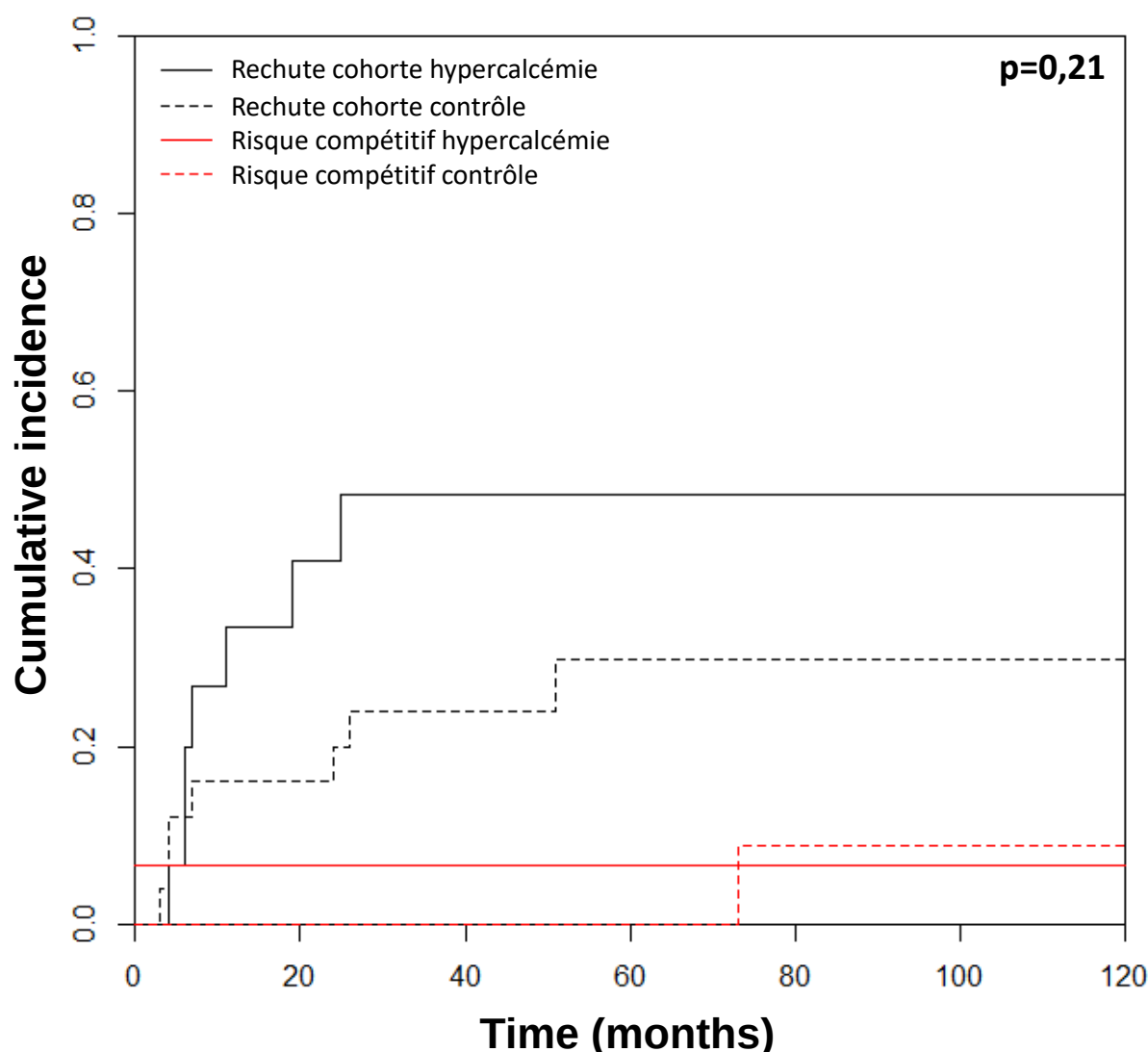


Figure 20 : Incidence cumulative de rechute ajustée au risque de décès par la méthode de Fine and Gray (courbe noire). Les courbes rouges représentent l'incidence cumulative de survenue d'événements compétitifs (ici le décès).

4.2.9. Etude univariée et multivariée des facteurs prédictifs de mortalité

Parmi l'ensemble de la population (cohortes d'hypercalcémie et de contrôle, $n=180$), l'analyse univariée a identifié l'hypercalcémie [*Hazard ratio* (HR)=3,44(95% CI=2,12-5,47), $p<10^{-3}$], les pathologies en rechute/réfractaire [HR=1,80 (95% CI=1,12-2,90), $p=0,02$] et un taux de CRP>20 mg/L [HR=2,16 (95% CI=1,31-3,57), $p=0,003$], comme facteurs prédictifs de mortalité. L'analyse multivariée a identifié l'hypercalcémie [HR=3,85 (95%CI=2,37-6,38), $p<10^{-3}$], les lymphomes de haut grade [HR=2,13 (95%CI=1,08-4,18), $p=0,03$] et les pathologies en rechute/réfractaire [HR=2,31 (95%CI=1,35-3,98), $p=0,002$] comme facteurs prédictifs indépendants de mortalité (**Tableau XIV**).

Nous avons ensuite restreint l'analyse aux 129 (71,7%) patients inclus au diagnostic (1^{ère} ligne thérapeutique). L'analyse univariée a identifié les patients à haut risque [HR=2,33, (95%

CI=1,12-4,83), p=0,02)] et l'hypercalcémie [HR=3,23, (95% CI=1,81-5,77), p<10⁻³] comme facteurs influençant négativement la SG. L'analyse multivariée a mis en évidence l'âge supérieur à 65 ans [HR=1,93 (95%CI=1,04-3,58, p=0,04)] et l'hypercalcémie [HR=3,28 (95% CI=1,78-6,06, p<10⁻³)] comme facteurs indépendants influençant la SG (**Tableau XV**).

Tous les patients inclus, n=180				
	Analyse univariée		Analyse multivariée ^a	
	HR (95% CI)	p-value	HR (95% CI)	p-value
Sexe (homme vs. femme)	1,00 (0,62-1,60)	0,99	-	-
Age (≤65 ans vs. > 65 ans)	1,36 (0,86-2,14)	0,19	-	-
Histologie (bas grade vs. haut grade)	1,62 (0,88-3,01)	0,13	2,13 (1,08-4,17)	0,03
Ligne thérapeutique à l'inclusion (1 ^{ère} ligne vs. > 1 ligne)	1,80 (1,12-2,90)	0,02	2,31 (1,35-3,98)	0,002
Stade Ann Arbor (localisé vs disséminé)	2,43 (0,77-7,73)	0,13	-	-
LDH (normales vs. élevées)	1,76 (0,71-4,36)	0,22	-	-
Score pronostic (haut risque vs. bas risque)	1,69 (0,72-2,95)	0,06	-	-
Atteinte SNC	1,24 (0,50-3,08)	0,64	-	-
Atteinte de la moelle osseuse	0,92 (0,56-1,53)	0,76	-	-
Atteinte osseuse	1,21 (0,74-2,00)	0,45		
Atteinte des gonades	0,53 (0,13-2,15)	0,37	-	-
Albumine sérique† (variable continue)	1,53 (0,96-2,45)	0,08	-	-
CRP (≤20 mg/L vs. >20 mg/L)	2,16 (1,31-3,57)	0,003	-	-
Hypercalcémie (≤2,60 mM vs. >2,60 mM)	3,44 (2,12-5,47)	<10 ⁻³	3,85 (2,37-6,38)	<10 ⁻³

Tableau XIV : Analyse de régression logistique selon la méthode de Cox, univariée et multivariée sur l'ensemble de la population. LDH : Lactate déshydrogénase ; SNC : système nerveux central ; CRP : protéine c réactive ; †Moyenne de la covariable à 36,0 g/L ; ^aL'analyse multivariée a été réalisée avec le modèle de régression pas-à-pas descendante (probabilités à l'entrée et d'exclusion étaient définies à 0,05 et 0,10, respectivement). Toutes les variables ont été incluses dans le modèle.

Patients inclus au diagnostic, n=129				
	Analyse univariée		Analyse multivariée ^a	
	HR (95 % CI)	p-value	HR (95 % CI)	p-value
Sexe (homme vs. femme)	0,95 (0,51-1,75)	0,87	-	-
Age (≤65 ans vs. > 65 ans)	1,59 (0,89-2,34)	0,12	1,93 (1,04-3,58)	0,04
Histologie (bas grade vs. haut grade)	2,22 (0,88-5,62)	0,09	-	-
Stade Ann Arbor (localisé vs. disséminé)	1,71 (0,53-5,50)	0,37	-	-
LDH (normales vs. élevées)	2,85 (0,69-11,77)	0,15	-	-
Score pronostic (haut risque vs. bas risque)	2,33 (1,12-4,83)	0,02	-	-
Atteinte SNC	1,11 (0,35-3,58)	0,86	-	-
Atteinte de la moelle osseuse	1,08 (0,59-1,97)	0,81	-	-
Atteinte osseuse	1,21 (0,74-2,00)	0,45		
Atteinte des gonades	0,94 (0,23-3,87)	0,93	-	-
Albumine sérique[†] (variable continue)	0,98 (0,94-1,03)	0,40	-	-
CRP[‡] (variable continue)	1,00 (0,99-1,01)	0,16	-	-
Hypercalcémie (≤2,60 mM vs. >2,60 mM)	3,23 (1,81-5,77)	<10 ⁻³	3,28 (1,78-6,06)	<10 ⁻³

Tableau XV : Analyse de régression logistique selon la méthode de Cox, univariée et multivariée sur la population au diagnostic. HR : Hazard ratio ; LDH : Lactate déshydrogénase ; SNC : système nerveux central ; CRP : protéine c réactive ; La moyenne des covariables étaient de [†] 35,3 g/L et [‡] 51,9 mg/L. ^aL'analyse multivariée a été réalisée avec le modèle de régression pas-à-pas descendante (probabilités à l'entrée et d'exclusion étaient définies à 0,05 et 0,10, respectivement). Toutes les variables ont été incluses dans le modèle.

5. ETUDE D'UNE COHORTE DE CAS RAPPORTES PUBLIES

5.1.Méthodes

Nous avons évalué les cas cliniques publiés et indexés dans PubMed entre 1996 et 2016. Les cas ont été identifiés après recherche par les mots-clefs "*hypercalcemia lymphoma*". Seuls ceux rédigés en Anglais, Français ou Espagnol ont été sélectionnés.

La recherche de référence a été réalisée le 25/08/2017.

L'analyse statistique a été réalisée en suivant la même méthodologie que celle utilisée pour l'étude rétrospective.

5.2.Résultats

5.2.1. *Identification des cas rapportés d'hypercalcémie au cours d'un lymphome*

La recherche par mots-clefs a permis d'identifier 430 références à évaluer. Parmi ces références, 341 ont été exclues en raison de diagnostic différent d'un lymphome (n=173), d'une langue différente du Français, de l'Anglais ou de l'Espagnol (n=6), d'un diagnostic d'hypercalcémie non détaillé (n=1), d'un cas récurrent (n=1), de l'absence d'hypercalcémie (n=2), d'une hypercalcémie non liée au lymphome (n=40), d'une population étudiée pédiatrique (n=23), d'articles issus de données chez l'animal (n=37), d'articles non accessibles pour l'évaluation (n=12), enfin en raison d'articles ne rapportant pas de cas ni de séries d'hypercalcémie survenant au cours d'un lymphome (n=46).

Après cette première sélection, 89 références ont été évaluées, 23 ne rapportant pas le devenir des patients ont été exclues. Finalement, 66 références ont été sélectionnées (**ANNEXE 9.4**). Parmi ces 66 références, 64 étaient des cas rapportés et 2 des séries de cas (rapportant 8 et 4 patients, respectivement). Soit au final, une inclusion de 76 cas rapportés (**Figure 21**).

5.2.2. *Caractéristiques de la population issue de la littérature*

L'âge médian des cas rapportés était de 69 ans (min : 18-max : 93). Cinquante-trois (69,8%), sept (9,2%) et six (8,0%) patients étaient suivis pour un LBDGC, un lymphome à cellules T, un lymphome de Hodgkin, respectivement. Les autres histologies incluses sont détaillées dans le **Tableau XVI**. Les histologies de haut et de bas grades ont été rapportées chez 63 (82,9%) et 13 (17,1%) patients. Un stade disséminé a été rapporté chez 70 (92,1%) patients. L'hypercalcémie était rapportée au moment du diagnostic chez 64 (84,2%) patients (**Tableau XVI**).

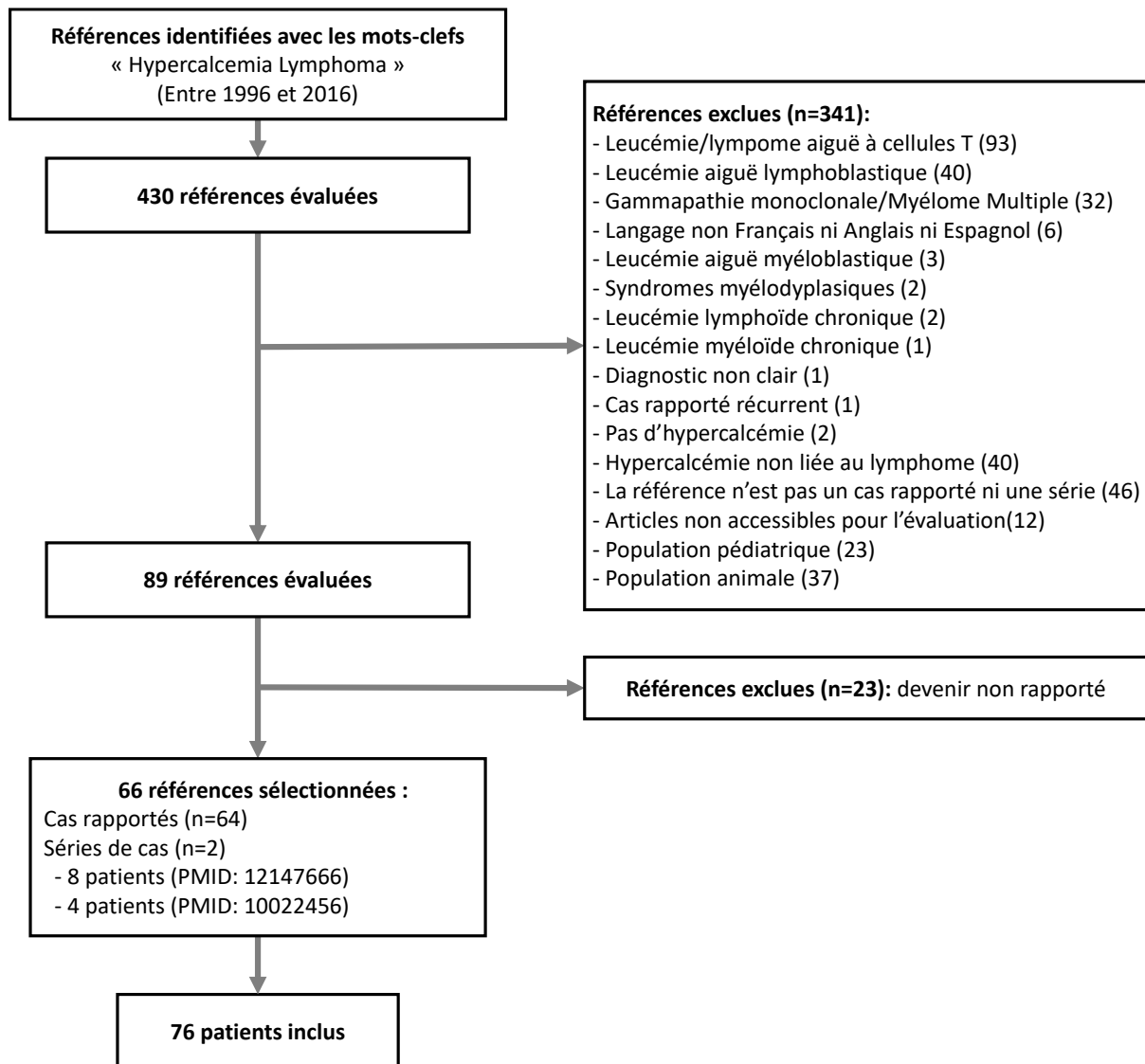


Figure 21 : Diagramme de flux des inclusions des cas rapportés d'hypercalcémie survenant au cours d'un lymphome.

	Cohorte de cas rapportés
n	76
Age (années)†, médiane (min-max)	69 (18-93)
Histologie, n (%)	
LBDGC	53 (69,8)
<i>De novo</i>	48 (90,6)
Transformé	5 (9,4)
Lymphome folliculaire	3 (3,9)
Lymphome à cellule T	7 (9,2)
Lymphome de Hodgkin	6 (8,0)
Lymphome de la zone marginale	2 (2,6)
Lymphome plasmablastique	1 (1,3)
Lymphome à cellules du manteau	1 (1,3)
Non précisé	3 (3,9)
Grade histologique^a, n (%)	
Haut grade	63 (82,9)
Bas grade	13 (17,1)
Stade à l'inclusion, n (%)	
Stade I/II	6 (7,9)
Stade III/IV	70 (92,1)
Statut de l'hémopathie à l'inclusion, n (%)	
Diagnostic	64 (84,2)
Rechute/réfractaire	12 (15,8)

Tableau XVI : Caractéristiques des cas rapportés de lymphomes avec hypercalcémie maligne. ^aLymphome de Burkitt, LBDGC, lymphome à cellules T et à cellules du manteau ont été définis comme haut grade † Une donnée manquante.

5.2.3. Devenir de la cohorte des cas publiés

Le suivi médian des 76 cas rapportés était de 3,0 mois (IQR : 1,0-9,0). La SG à 2 ans était de 32,1% (IC95%=18,4-45,8). La médiane de survie était de 9,0 (IC95%=5,6-12,4) mois (**Figure 22**).

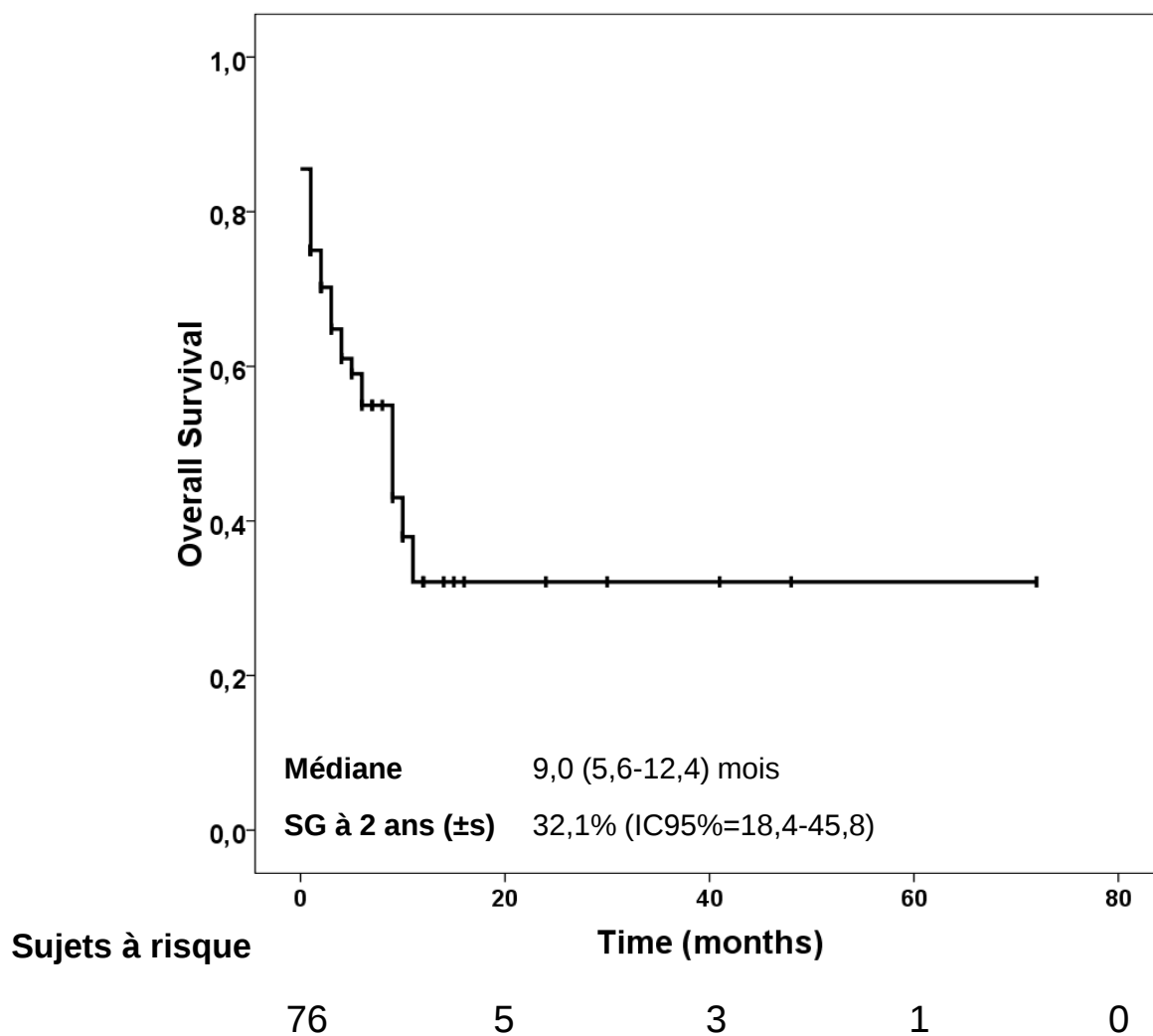


Figure 22 : Survie globale à partir de l'inclusion de la cohorte de cas rapportés de lymphomes avec hypercalcémie maligne dans la littérature entre 1996 et 2016.

6. DISCUSSION

Cette étude décrit les caractéristiques de tous les sous-types histologiques de lymphome associés à au moins un évènement d'hypercalcémie entre 2000 et 2016. Cette cohorte d'hypercalcémie a été comparée à une cohorte appariée pour les facteurs prédictifs de rechute et de mortalité connus du lymphome.

L'étude du devenir de la cohorte d'hypercalcémie a été complétée par une étude des cas rapportés de lymphome compliqué d'une hypercalcémie indexés dans PubMed entre 1996 et 2016.

La principale force de cette étude est son groupe de contrôle apparié qui permet pour la première fois de suggérer fortement l'impact négatif de la survenue d'une hypercalcémie. De plus, cette étude explore la SSP et la place de l'intensification et ASCT, données qui ne sont pas publiées à ce jour.

Cependant, le caractère rétrospectif ne permet pas de décrire les causes physiopathologiques de la survenue d'hypercalcémie (PTHrP, calcitriol ou envahissement osseux). De plus, il est probable qu'un biais d'inclusion sous-estime l'incidence de la survenue des hypercalcémies et biaise l'extrapolation des caractéristiques du groupe d'hypercalcémie.

6.1. Caractéristiques de la cohorte d'hypercalcémie

L'hypercalcémie a été retrouvée chez 48 (77,4%) et 14 (22,6%) patients avec un diagnostic de lymphome de haut et de bas grade, respectivement. Les cohortes de Majumdar et Shallis *et al.* ont rapporté un ratio comparable de lymphomes de haut grade.^{43,49} Parmi les 76 cas rapportés, indexés dans PubMed entre 1996 et 2006, de lymphomes avec hypercalcémie, 63 (82,9%) et 13 (17,1%) étaient de haut et de bas grade respectivement.

La proportion de transformation de lymphomes de bas grade est de 16% (n=10) dans notre groupe d'hypercalcémie, ce qui est comparable aux données des précédentes études (12,5% à 16,1%).^{43,49} Cinq (9,4%) des cas rapportés dans la littérature concernent une transformation de lymphome de bas grade.

L'hypercalcémie est principalement observée au diagnostic dans notre cohorte (71%). Deux études décrivent la survenue de l'hypercalcémie uniquement au diagnostic.^{43,48} La cohorte rétrospective de Majumdar a inclus cinq (62,5%) patients au diagnostic.⁴⁹ Les cas rapportés d'hypercalcémie au diagnostic d'un lymphome concernent 84,2% des patients.

Cette étude rapporte pour la première fois l'association entre la survenue d'une hypercalcémie et les scores pronostics élevés du lymphome : l'IPI, le FLIPI et le score de Hasenclever au-delà de 3 chez 75,8% des patients. Dans notre cohorte, l'hypercalcémie est associée à un stade disséminé (91,9%), au moins une atteinte extra-nodale (79%) et des LDH élevées (90,3%). La revue de la littérature de Seymour et Gagel rapporte le stade disséminé chez 90,9% des patients.¹⁰⁷ L'étude monocentrique de Shallis *et al.* a mis en évidence un stade disséminé chez 77,8% des patients avec hypercalcémie.⁴³ Ces caractéristiques cliniques sont comparables aux données des cas rapportés soit 92,1% des patients avec hypercalcémie ayant un stade disséminé.

L'atteinte osseuse n'a été retrouvée que chez 23 (37%) patients dans le groupe d'hypercalcémie. Cette faible prévalence de l'atteinte osseuse a été retrouvée par Seymour et Gagel qui ont montré seulement 13% des sujets atteints de LH avec hypercalcémie. Aucun sujet atteint de LNH avec hypercalcémie n'avait d'atteinte osseuse lytique spécifique dans cette étude.¹⁰⁷ Les autres travaux publiés décrivent des cohortes sélectionnées pour une hypercalcémie humorale ou une atteinte osseuse spécifique, ce qui empêche toute comparaison directe.^{43,45,48} Des mécanismes humoraux ou un manque d'exploration spécifique des atteintes osseuses peuvent expliquer cette faible fréquence d'atteinte osseuse.

La classification en LBDGC GC et non-GC n'a pas pu être réalisée compte-tenu de l'absence d'analyse systématique immunohistochimique permettant la classification selon l'algorithme de Hans. Cependant, Shallis *et al.* ont rapporté une association entre hypercalcémie et LBDGC de type non-GC (70%).⁴³

6.2. Devenir des patients inclus dans l'étude rétrospective

La SG à 2 ans et la médiane de SG de la cohorte d'hypercalcémie est de 40,6% et de 15 mois, respectivement. Dans la cohorte de contrôle, la SG médiane n'a pas été atteinte et la SG à 2 ans est de 77,7%, ce qui est significativement meilleur que la cohorte d'hypercalcémie. Un taux de mortalité élevé a été observé dans les sous-groupes LBDGC et LF de la cohorte d'hypercalcémie, la SG à 2 ans est de 37,5% et 33,3%, respectivement. A noter que l'élévation de la mortalité n'était pas liée à une différence de traitement compte-tenu de la comparabilité des traitements reçus dans les deux cohortes.

La médiane de SG de 17 patients diagnostiqués d'une hémopathie maligne incluant neuf (52,9%) MM était de 72 jours dans l'étude de Jin *et al.*⁴⁵ Lehnert *et al.* ont montré une médiane de SG inférieure à 6 mois de LBDGC avec atteinte osseuse et hypercalcémie.⁴⁸ Shallis *et al.*

ont rapporté une survie médiane comprise entre 10 et 50 mois.⁴³ La SG des cas rapportés était également courte (médiane à 9 mois et SG à 2 ans 32,1%).

La SG à 2 ans des LBDGC de notre cohorte est de 75,9%. Ziepert *et al.* ont rapporté une SG à 3 ans de 65,1% et 59% pour les IPI=3 et IPI $\geq$ 4, respectivement.¹⁸ Concernant les LF, la SG à 2 ans de notre cohorte de contrôle est de 83,3% alors que Buske *et al.* ont rapporté 92% au sein d'une population avec un score FLIPI $\geq$ 3.¹⁵¹ Des patients à faible risque et en rechute ou réfractaires ont été inclus dans notre groupe de contrôle. Ces caractéristiques sont une source de biais potentiel pour une comparaison directe entre notre cohorte et les études précédentes.

Ensuite, nous avons évalué l'impact indépendant de la survenue d'une hypercalcémie par une analyse multivariée. Au sein de l'ensemble de la population (n=180), l'analyse multivariée a mis en évidence un impact négatif sur la SG de l'hypercalcémie (HR=3,85), le statut rechute/réfractaire (HR=2,31) et le diagnostic d'un lymphome de haut grade (HR=2,13). En outre, au diagnostic, parmi les 129 patients, l'hypercalcémie (HR=3,28) et l'âge supérieur à 65 ans (HR=1,93) est indépendamment associés à une augmentation du risque de mortalité. Troppan *et al.* ont montré, dans une étude rétrospective de 477 LBDGC que l'élévation de la CRP (> 15 mg/L) était prédictive d'une plus courte SG et SSP.²² La baisse de la concentration de sAlbumine (<37 g/L) a également été identifiée comme un facteur prédictif indépendant de la SG et de la SSP au sein d'une population de 295 LBDGC.¹⁹ Nous n'avons pas retrouvé d'impact prédictif de la CRP et la sAlbumine sur la SG en analyse multivariée.

Dans notre étude, la SSP à 2 ans est significativement plus courte dans la cohorte d'hypercalcémie comparée à la cohorte de contrôle (28% contre 64%, respectivement). Dans le sous-groupe de contrôle LBDGC, la SSP à 2 ans est de 63,5%. A l'ère du Rituximab, Ziepert *et al.* ont rapporté une SSP à 3 ans de 58,6% et 55,8% au sein de strates avec un IPI=3 et IPI>3, respectivement.¹⁶ Dans le sous-groupe de LF du groupe de contrôle, la SSP à 2 ans est plus courte que celle rapportée de FL à haut risque (FLIPI $\geq$ 3) traité par R-CHOP (58,3% contre 67%).¹⁵¹ Comme pour la SG, la comparaison directe peut être biaisée par les différences de caractéristiques entre les populations publiées et celle de notre étude.

6.3.Impact de l'intensification et ASCT

Du fait de l'absence de données concernant les stratégies thérapeutiques après survenue d'une hypercalcémie, nous avons évalué l'impact des stratégies d'intensification sur la SG avec une analyse en ITT. La SG à 2 ans était significativement inférieure dans le groupe d'hypercalcémie comparée au groupe de contrôle (49% contre 77%). La SG à 2 ans de la cohorte de contrôle est

comparable à la SG à 2 ans observée après intensification avec un conditionnement de type BEAM pour les lymphomes de haut et de bas grade [70%¹⁵²⁻¹⁵⁴ et 80%¹⁵⁵, respectivement]. Ces résultats suggèrent que l'intensification n'est pas associée à une amélioration de la SG en cas de survenue d'une hypercalcémie.

6.4. Physiopathologie de l'hypercalcémie

Au cours d'un cancer, l'hypercalcémie peut être liée à un facteur systémique (PTHrP ou calcitriol) qui favorise la réabsorption du calcium et l'ostéorésorption.¹¹⁰ Les causes humorales par synthèse de PTHrP sont davantage retrouvées au cours des tumeurs solides en comparaison aux lymphomes (85% contre 5%, respectivement).^{44,45} La production de calcitriol après conversion de la 25-hydroxyvitamine D par les macrophages est le mécanisme systémique le plus fréquent d'hypercalcémie au cours des lymphomes.^{107,143} L'ostéorésorption peut être favorisée par des facteurs locaux tels que la protéine pro-inflammatoire MIP1a. L'analyse par RT-PCR de deux cas de LBDCG et d'un cas de LCM blastoïde a montré la synthèse de MIP1a par les cellules lymphomateuses.^{112,124} Notre étude appuie l'impact de l'inflammation au cours des hypercalcémies associées au lymphome. En effet, une CRP élevée a été retrouvée dans la cohorte d'hypercalcémie (37,3 mg/L contre 11,1 mg/L) ainsi qu'une sAlbumine plus basse (33,9 g/L contre 38,0 g/L). Cependant nous n'avons pas été en mesure d'évaluer les mécanismes physiopathologiques responsables de l'hypercalcémie en raison de données manquantes de dosage de PTHrP et calcitriol au moment de l'évènement.

6.5. Hypothèses des mécanismes physiopathologiques pouvant expliquer l'impact pronostic de l'hypercalcémie

6.5.1. Calcitriol et immunosuppression

Le calcitriol est impliqué dans la régulation de la réponse immunitaire adaptative notamment dans les interactions entre les lymphocytes B et les cellules dendritiques qui permettent d'orienter la réponse immunitaire vers l'immunosuppression médiée par les lymphocytes T régulateurs.^{156,157} Cette orientation immunosuppressive pourrait être responsable de l'agressivité et de la chimiorésistance observée au sein de la cohorte d'hypercalcémie.

6.5.2. MIP1a

In vitro, Les cellules lymphomateuses (issues de lymphomes à cellules du manteau) traitées par MIP1a recombinant ont une augmentation de la prolifération cellulaire dose dépendante.¹¹² L'inhibition de la Bruton's tyrosine kinase (BTK) par de l'ibrutinib est associée à une diminution d'expression de MIPa au niveau de lignées lymphomateuses infectées par le virus

Epstein-Barr et à une augmentation de la chimio-sensibilité de cellules primaires de LBDGC, elles aussi infectées par le virus Epstein-Barr.¹⁵⁸ La présence de MIP1a dans l'environnement tumoral pourrait donc favoriser la prolifération tumorale.

6.5.3. *RANKL*

La co-culture de lignées lymphomateuses B avec des lignées des cellules souches mésenchymateuses entraîne une diminution de l'apoptose induite par la mitoxantrone par l'intermédiaire de facteurs solubles activant la voie de signalisation NF- κ B.¹⁵⁹ La synthèse de RANKL par le tissu tumoral observée en cas d'hypercalcémie pourrait favoriser l'activation de cette voie de signalisation.¹¹⁸⁻¹²⁰ En outre, le RANKL participerait à l'échappement immunitaire des cellules tumorales. L'injection d'anticorps anti-RANKL, dans le modèle de xénogreffe murin de cancer solides, est associée à une augmentation de l'effet des traitements anti-PD1 sur l'inhibition de la prolifération tumorale et l'augmentation de l'activité des lymphocytes T effecteurs (anti-tumoraux).¹⁶⁰

6.5.4. *Microenvironnement tumoral osseux*

La prolifération des cellules de différentes lignées cellulaires de lymphome B est augmentée en cas de co-culture avec des pré-ostéoclastes issus de cellules mononucléées du sang périphérique.¹¹⁹ Les mécanismes d'activation des ostéoclastes pourraient alors engager un cercle vicieux stimulant la prolifération tumorale, elle-même favorisant l'activation des ostéoclastes.

7. CONCLUSIONS

La survenue d'une hypercalcémie est plus fréquemment observée en cas de lymphome à haut risque. La comparaison avec un groupe de patients sans hypercalcémie ayant les mêmes facteurs pronostics et ayant reçu le même type de traitement montre que les patients du groupe d'hypercalcémie ont un risque plus élevé de rechute et de décès. L'hypercalcémie est indépendamment associée à une augmentation du risque de décès et l'ASCT n'améliore pas la SG du groupe d'hypercalcémie. L'association entre l'hypercalcémie et l'augmentation du risque de décès ou de rechute doit être confirmée par une étude prospective avec dosage systématique de la calcémie à chaque diagnostic de lymphome afin d'éviter les biais d'inclusion.

Devant l'agressivité de ces lymphomes, d'autres stratégies thérapeutiques doivent être étudiées. In vivo, le rétablissement de l'immunité anti-tumorale par le blocage de RANKL et de PD1 permet de diminuer la prolifération tumorale.¹⁶⁰ Le dénosumab, un anticorps monoclonal anti-RANKL, a obtenu l'autorisation de mise sur le marché en 2012 pour la prévention des complications osseuses du cancer.¹⁶¹ L'association du dénosumab avec un anticorps monoclonal anti-PD1 fait l'objet d'une étude de Phase I/II dans le mélanome non résecable ou métastatique (étude NCT03161756). La détection de MIP1a est associée, *in vitro*, à la chimiorésistance de LBDGC infectés par le virus Epstein-Barr. Cette dernière est réversible après inhibition de BTK par l'administration d'ibrutinib.¹⁵⁹ L'ibrutinib pourrait être utilisé en cas d'hypercalcémie et d'élévation de MIP1a. Une stratégie thérapeutique associant la chimiothérapie à des traitements ciblés pour le rétablissement de l'immunité anti-tumorale du microenvironnement pourrait être envisagé afin d'améliorer le pronostic de ces lymphomes.

De plus, la réalisation d'une étude biologique prospective pourrait permettre d'explorer la physiopathologie de l'hypercalcémie maligne des lymphomes en incluant le dosage sanguin des facteurs influençant le métabolisme calcique (PTHrP, calcitriol, MIPa, TNF α et IL-6 notamment) et l'étude du mécanisme d'échappement tumoral par l'expression de RANKL.

Ces travaux prospectifs apporteront une meilleure compréhension des mécanismes de l'hypercalcémie et de son impact négatif sur la survie, ce qui permettra de réajuster la stratégie thérapeutique dans ces situations à haut risque de rechute et de décès.

8. REFERENCES

1. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127:2375–2390.
2. Montoto S, Fitzgibbon J. Transformation of indolent B-cell lymphomas. *J. Clin. Oncol.* 2011;29:1827–1834.
3. Smith A, Crouch S, Lax S, et al. Lymphoma incidence, survival and prevalence 2004-2014: sub-type analyses from the UK's Haematological Malignancy Research Network. *Br. J. Cancer*. 2015;112:1575–1584.
4. Küppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. *Nat. Rev. Cancer*. 2005;5:251–262.
5. Küppers R, Klein U, Hansmann ML, Rajewsky K. Cellular origin of human B-cell lymphomas. *N. Engl. J. Med.* 1999;341:1520–1529.
6. Dubois S, Viailly PJ, Mareschal S, et al. Next-generation sequencing in diffuse large B-cell lymphoma highlights molecular divergence and therapeutic opportunities: a LYSA study. *Clin. Cancer Res.* 2016;22:2919–2928.
7. Van Arnem JS, Lim MS, Elenitoba-Johnson KSJ. Novel insights into the pathogenesis of T-cell lymphomas. *Blood*. 2018;131:2320–2330.
8. Küppers R. The biology of Hodgkin's lymphoma. *Nat. Rev. Cancer*. 2009;9:15–27.
9. Küppers R. Molecular biology of Hodgkin lymphoma. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. 2009;491–496.
10. Scott DW, Gascoyne RD. The tumour microenvironment in B cell lymphomas. *Nat. Rev. Cancer*. 2014;14:517–534.
11. Tweeddale ME, Lim B, Jamal N, et al. The presence of clonogenic cells in high-grade malignant lymphoma: a prognostic factor. *Blood*. 1987;69:1307–1314.
12. Umetsu DT, Esserman L, Donlon TA, DeKruyff RH, Levy R. Induction of proliferation of human follicular (B type) lymphoma cells by cognate interaction with CD4+ T cell clones. *J. Immunol.* 1990;144:2550–2557.
13. Taylor JG, Gribben JG. Microenvironment abnormalities and lymphomagenesis: Immunological aspects. *Semin. Cancer Biol.* 2015;34:36–45.
14. Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB, et al. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting. *J. Clin. Oncol.* 1989;7:1630–1636.
15. International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors. A predictive model for aggressive Non-Hodgkin's lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 1993;329:987–994.

16. Ziepert M, Hasenclever D, Kuhnt E, et al. Standard international prognostic index remains a valid predictor of outcome for patients with aggressive CD20+ B-cell lymphoma in the rituximab era. *J. Clin. Oncol.* 2010;28:2373–2380.
17. Ansell S, Habermann T, Kurin P, et al. Predictive capacity of the International Prognostic Factor Index in patients with peripheral T-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 1997;15:2296-2301.
18. Alizadeh a a, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature.* 2000;403:503–511.
19. Dalia S, Chavez J, Little B, et al. Serum albumin retains independent prognostic significance in diffuse large B-cell lymphoma in the post-rituximab era. *Ann. Hematol.* 2014;93:1305–1312.
20. Ochi Y, Kazuma Y, Hiramoto N, et al. Utility of a simple prognostic stratification based on platelet counts and serum albumin levels in elderly patients with diffuse large B cell lymphoma. *Ann. Hematol.* 2017;96:1–8.
21. Sun F, Zhu J, Lu S, et al. An inflammation-based cumulative prognostic score system in patients with diffuse large B cell lymphoma in rituximab era. *BMC Cancer.* 2018;18:5.
22. Troppan KT, Schlick K, Deutsch A, et al. C-reactive protein level is a prognostic indicator for survival and improves the predictive ability of the R-IPI score in diffuse large B-cell lymphoma patients. *Br. J. Cancer.* 2014;111:55–60.
23. Sarkozy C, Traverse-Glehen A, Coiffier B. Double-hit and double-protein-expression lymphomas: aggressive and refractory lymphomas. *Lancet Oncol.* 2015;16:e555–e567.
24. Foussard C, Desablens B, Sensebe L, et al. Is the International Prognostic Index for aggressive lymphomas useful for low-grade lymphoma patients? Applicability to stage III-IV patients. The GOELAMS Group, France. *Ann. Oncol.* 1997;8(Suppl. 1):49–52.
25. Solal-Céligny P, Roy P, Colombat P, et al. FLIPI: Follicular Lymphoma International Prognostic Index. *Blood.* 2004;104:1258–1265.
26. Federico M, Bellei M, Marcheselli L, et al. Follicular lymphoma international prognostic index 2: A new prognostic index for follicular lymphoma developed by the international follicular lymphoma prognostic factor project. *J. Clin. Oncol.* 2009;27:4555–4562.
27. Shi Q, Flowers CR, Hiddemann W, et al. Thirty-Month Complete Response as a Surrogate End Point in First-Line Follicular Lymphoma Therapy: An Individual

- Patient-Level Analysis of Multiple Randomized Trials. *J. Clin. Oncol.* 2017;35:552-560.
28. Hoster E, Dreyling M, Klapper W, et al. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. *Blood.* 2008;111:558–565.
 29. Hasenclever D, Diehl V, Armitage JO, et al. A Prognostic Score for Advanced Hodgkin's Disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N. Engl. J. Med.* 1998;339:1506–1514.
 30. ESMO Guidelines Working Group, Jost L. Hodgkin's disease: ESMO Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* 2007;18(Suppl. 2):ii53-ii54.
 31. Doorduijn JK, van Imhoff GW, van der Holt B, et al. Treatment of secondary central nervous system lymphoma with intrathecal rituximab, high-dose methotrexate, and R-DHAP followed by autologous stem cell transplantation: results of the HOVON 80 phase 2 study. *Hematol. Oncol.* 2017;35:497–503.
 32. Hollender A, Kvaloy S, Lote K, Nome O, Holte H. Prognostic factors in 140 adult patients with non-Hodgkin's lymphoma with systemic central nervous system (CNS) involvement. A single centre analysis. *Eur. J. Cancer.* 2000;36:1762–1768.
 33. El-Galaly TC, Villa D, Alzahrani M, et al. Outcome prediction by extranodal involvement, IPI, R-IPI, and NCCN-IPI in the PET/CT and rituximab era: A Danish-Canadian study of 443 patients with diffuse-large B-cell lymphoma. *Am. J. Hematol.* 2015;90:1041–1046.
 34. Jurinovic V, Kridel R, Staiger AM, et al. Clinicogenetic risk models predict early progression of follicular lymphoma after first-line immunochemotherapy. *Blood.* 2016;128:1112-1120.
 35. Schmitz R, Wright GW, Huang DW, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 2018;378:1396–1407.
 36. Beà S, Valdés-Mas R, Navarro A, et al. Landscape of somatic mutations and clonal evolution in mantle cell lymphoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 2013;110(45):18250–18255.
 37. Gastanaga VM, Schwartzberg LS, Jain RK, et al. Prevalence of hypercalcemia among cancer patients in the United States. *Cancer Med.* 2016;5:2091–2100.
 38. Warwick OH, Yendt ER, Olin JS. The clinical features of hypercalcemia associated with malignant disease. *Can. Med. Assoc. J.* 1961;85:719–723.

39. Ralston SH, Gallacher SJ, Patel U, Campbell J, Boyle IT. Cancer-associated hypercalcemia: morbidity and mortality. Clinical experience in 126 treated patients. *Ann. Intern. Med.* 1990;112:499–504.
40. Burtis WJ, Brady TG, Orloff JJ, et al. Immunochemical characterization of circulating parathyroid hormone-related protein in patients with humoral hypercalcemia of cancer. *N. Engl. J. Med.* 1990;322:1106–1112.
41. Vassilopoulou-Sellin R, Newman BM, Taylor SH, Guinee VF. Incidence of hypercalcemia in patients with malignancy referred to a comprehensive cancer center. *Cancer.* 1993;71:1309–1312.
42. Firkin F, Seymour JF, Watson AM, Grill V, Martin TJ. Parathyroid hormone-related protein in hypercalcaemia associated with haematological malignancy. *Br. J. Haematol.* 1996;94:486–492.
43. Shallis RM, Rome RS, Reagan JL. Mechanisms of Hypercalcemia in Non-Hodgkin Lymphoma and Associated Outcomes: A Retrospective Review. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 2018;18:e123–e129.
44. Donovan PJ, Achong N, Griffin K, et al. PTHrP-mediated hypercalcemia: Causes and survival in 138 patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015;100:2024–2029.
45. Jin J, Chung JO, Chung MY, Cho DH, Chung DJ. Clinical Characteristics, Causes and Survival in 115 Cancer Patients with Parathyroid Hormone Related Protein-mediated Hypercalcemia. *J. Bone Metab.* 2017;24:249-255.
46. Seymour JF, Gagel RF, Hagemester FB, Dimopoulos MA, Cabanillas F. Calcitriol production in hypercalcemic and normocalcemic patients with non-Hodgkin lymphoma. *Ann. Intern. Med.* 1994;121:633–640.
47. Beaudreuil J, Lortholary O, Martin A, et al. Hypercalcemia may indicate Richter's syndrome: Report of four cases and review. *Cancer.* 1997;79:1211–1215.
48. Lehnert N, Krämer I, Saadati M, et al. Analysis of prognostic factors in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma and skeletal involvement. *BMC Cancer.* 2017;17:128.
49. Majumdar G. Incidence and prognostic significance of hypercalcaemia in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Pathol.* 2002;55:637–638.
50. ANSES. Le Calcium. Version du 09/06/2016. Consulté le 14/04/2018. URL : <https://www.anses.fr/fr/content/le-calcium>.
51. Lieben L, Carmeliet G. The involvement of TRP channels in bone homeostasis. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2012;3:99.

52. Murshed M. Mechanism of Bone Mineralization. Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2018;a031229.
53. Kenkre JS, Bassett JH. The bone remodelling cycle. Ann. Clin. Biochem. 2018;55:308-327.
54. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. Nature. 1999;397:315–323.
55. Robertson WG, Marshall RW, Walser M. Calcium measurements in serum and plasma-total and ionized. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 1979;11:271–304.
56. McLean FC, Hastings BA. The State of Calcium In The Fluids Of The Body: I. The Conditions Affecting The Ionization Of Calcium. J. Biol. Chem. 1935;108:285–321.
57. Berridge MJ, Bootman MD, Roderick HL. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2003;4:517–529.
58. Neher E, Sakaba T. Multiple Roles of calcium ions in the regulation of neurotransmitter release. Neuron. 2008;59:861–872.
59. Allard B. From excitation to intracellular Ca^{2+} movements in skeletal muscle: basic aspects and related clinical disorders. Neuromuscul. Disord. 2018;28:394-401.
60. Mikaelsson ME. The Role of Calcium in Coagulation and Anticoagulation. Coagul. Blood Transfus. 1991;29–37.
61. Gidenne S, Vigezzi JF, Delacour H, Damiano J, Clerc Y. Dosage direct du calcium ionisé plasmatique ou estimation par calcul: Intérêts et limites. Ann. Biol. Clin. (Paris). 2003;61:393–399.
62. Brown EM. Clinical lessons from the calcium-sensing receptor. Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab. 2007;3:122–133.
63. Gene [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004 – Consulté le 15/05/18. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/84664>.
64. Freichelt M, Zink-lorenz A, Holloschi A, et al. Expression of Calcium-Sensing Receptor in a Human Medullary Thyroid Carcinoma Cell Line and Its Contribution to Calcitonin Secretion. Endocrinology. 1996;137:3842–3848.
65. Ho C, Conner DA, Pollak MR, et al. A mouse model of human familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. Nat. Genet. 1995;11:389–394.
66. Kantham L, Quinn SJ, Egbuna OI, et al. The calcium-sensing receptor (CaSR) defends against hypercalcemia independently of its regulation of parathyroid hormone secretion. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2009;297:915–923.

67. Remy C, Kirchhoff P, Hafner P, et al. Stimulatory Pathways of the Calcium-Sensing Receptor on Acid Secretion in Freshly Isolated Human Gastric Glands. *Cell. Physiol. Biochem.* 2007;19:33–42.
68. Zaidi M, Kerby J, Huang CL, Alam ASMT. Divalent Cations Mimic the Inhibitory Effect of Extracellular Ionised Calcium on Bone Resorption by Isolated Rat Osteoclasts: Further Evidence for a “Calcium Receptor”. *J. Cell. Physiol.* 1991;149(3):422–427.
69. Quarles LD, Hartle JE, Siddhanti SR, Guo R, Hinson TK. A Distinct Cation-Sensing Mechanism in MC3T3-E1 Osteoblasts Functionally Related to the Calcium Receptor. *J. Bone Miner. Res.* 1997;12:393–402.
70. Murray TM, Rao LG, Divieti P, Bringham FR. Parathyroid hormone secretion and action: Evidence for discrete receptors for the carboxyl-terminal region and related biological actions of carboxyl-terminal ligands. *Endocr. Rev.* 2005;26:78–113.
71. Lustenberger N, Hehrmann R, Jüppner H, Delling G, Hesch RD. Kinetics of PTH metabolism and PTH fragments in chronic renal failure. *Contrib. Nephrol.* 1978;13:115–124.
72. Schwarz P. Dose response dependency in regulation of acute PTH(1-84) release and suppression in normal humans: a citrate and calcium infusion study. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1993;53:601–605.
73. Pollak MR, Brown EM, Chou YHW, et al. Mutations in the human $\text{Ca}(2+)$ -sensing receptor gene cause familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. *Cell.* 1993;75:1297–1303.
74. Schipani E, Karga H, Karaplis AC, et al. Identical Complementary Deoxyribonucleic Acids Encode a Human Renal and Bone Parathyroid Hormone (PTH)/PTH-Related Peptide Receptor. *Endocrinology.* 1993;132:2157–2165.
75. Knop J, Montz R, Schneider C, et al. Bone Calcium Exchange in Primary Hyperparathyroidism as Measured by ^{47}Ca Kinetics. *Metabolism.* 1980;29:819–825.
76. Huang JC, Sakata T, Pflieger LL, et al. PTH Differentially Regulates Expression of RANKL and OPG. *J. Bone Miner. Res.* 2004;19(2):235–244.
77. Fraser DR, Kodicek E. Regulation of 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase Activity in Kidney by Parathyroid Hormone. *Nat. New Biol.* 1973;241:163–166.
78. Holick MF, MacLaughlin J, Clark MB et al. Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences. *Science.* 1980;210(4466):203–205.

79. Goltzman D, Mannstadt M, Marcocci C. Physiology of the Calcium-Parathyroid Hormone-Vitamin D Axis. *Front. Horm. Res.* 2018;50:1–13.
80. Omdahl JL, Morris HA, May BK. Hydroxylase enzymes of the vitamin D pathway: Expression, Function, and Regulation. *Annu. Rev. Nutr.* 2002;22:139–166.
81. Lieben L, Carmeliet G, Masuyama R. Calcemic actions of vitamin D: Effects on the intestine, kidney and bone. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011;25:561–572.
82. Van Cromphaut SJ, Dewerchin M, Hoenderop JGJ, et al. Duodenal calcium absorption in vitamin D receptor-knockout mice: Functional and molecular aspects. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001;98:13324–13329.
83. Masuyama R, Stockmans I, Torrekens S, et al. Vitamin D receptors in chondrocytes promoted osteoclastogenesis and regulates FGF23 production in osteoblasts. *J. Clin. Invest.* 2006;116:3150–3159.
84. Strewler GJ. The Physiology of Parathyroid Hormone-Related Protein. *N. Engl. J. Med.* 2000;342:177–185.
85. Murad F, Pak CY. Urinary Excretion of Adenosine 3',5'-Monophosphate and Guanosine 3',5'-Monophosphate. *N. Engl. J. Med.* 1972;286:1382–1387.
86. Broadus AE. Nephrogenous cyclic AMP as a parathyroid function test. *Nephron.* 1979;23:136–141.
87. Stewart AF, Insogna KL, Burtis WJ, et al. Frequency and partial characterization of adenylate cyclase-stimulating activity in tumors associated with humoral hypercalcemia of malignancy. *J. Bone Miner. Res.* 1986;1(3):267–276.
88. Mirams M, Robinson BG, Mason RS, Nelson AE. Bone as a source of FGF23: Regulation by phosphate? *Bone.* 2004;35:1192–1199.
89. Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J. Bone Miner. Res.* 2004;19:429–435.
90. Barbour GL, Coburn JW, Slatopolsky E, Norman AW, Horst RL. Hypercalcemia in an Anephric Patient with Sarcoidosis: Evidence for Extrarenal Generation of 1,25-Dihydroxyvitamin D. *N. Engl. J. Med.* 1981;305:440–443.
91. Adams JS, Gacad MA. Characterization of 1 alpha-hydroxylation of vitamin D3 sterols by cultured alveolar macrophages from patients with sarcoidosis. *J. Exp. Med.* 1985;161:755–65.
92. Ziegler R. Hypercalcemic crisis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2001;12:S3-S9.
93. Gill JR, Bartter FC. On the impairment of renal concentrating ability in prolonged hypercalcemia and hypercalciuria in man. *J. Clin. Invest.* 1960;716–722.

94. AFSSAP. Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale Biochimie 10BIO1 et 10BIO2 (2010). Edition mars 2012. Consulté le 15/04/2018. URL : http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/864745724deb88c48699b2b293ae8fce.pdf.
95. Burnett RW, Christiansen TF, Covington AK, et al. IFCC Recommended Reference Method for the Determination of the Substance Concentration of Ionized Calcium in Undiluted Serum, Plasma or Whole Blood. Clin. Chem. Lab. Med. 2000;38:1301-1314.
96. ANSM. Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale. Gazométrie 16GAZA (2016). Edition juin 2017. Consulté le 15/04/2018. URL : http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/0b42976a258c7a1a2394b2b8bc7c40fa.pdf.
97. Gaiter AM, Bonfant G, Manes M, Belfanti P, Alloatti S. Relation between blood pH and ionized calcium during acute metabolic alterations of the acid-base balance in vivo. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1997;57:317–323.
98. Spira G, Silvian I, Tatarsky I, Hazani A. A calcium binding IgG myeloma protein. Scand. J. Haematol. 1980;24:193–198.
99. Merlini G, Fitzpatrick LA, Siris ES, et al. A human myeloma immunoglobulin G binding four moles of calcium associated with asymptomatic hypercalcemia. J. Clin. Immunol. 1984;4(3):185–196.
100. Duncan PH, Wills MR, Smith BJ, Savory J. Clinical studies of protein-bound calcium in various diseases. Clin. Chem. 1982;28:672–675.
101. COFER. Item 266 UE8 : Hypercalcémie. Référentiel Rhumatologie. 2015; Consulté le 10/04/2018. URL : <http://www.lecofer.org/item-cours-1-28.php>.
102. CUEN. Item 266 UE8 Hypercalcémie. Référentiel de Néphrologie. 2016; Consulté le 10/04/2018. URL : <http://cuen.fr/umvf/spip.php?article88&lang=fr>.
103. Ladenson JH, Lewis JW, Boyd JC. Failure of total calcium corrected for protein, albumin, and pH to correctly assess free calcium status. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1978;46:986–993.
104. Zaloga GP, Chernow B, Cook D, et al. Assessment of calcium homeostasis in the critically ill surgical patient. The diagnostic pitfalls of the McLean-Hastings nomogram. Ann. Surg. 1985;202:587–594.
105. Santarpia L, Koch CA, Sarlis NJ. Hypercalcemia in cancer patients: Pathobiology and management. Horm. Metab. Res. 2010;42:153–164.
106. Endres DB. Investigation of hypercalcemia. Clin. Biochem. 2012;45:954–963.

107. Seymour JF, Gagel RF. Calcitriol: the major humoral mediator of hypercalcemia in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphomas. *Blood*. 1993;82:1383–1394.
108. Soyfoo MS, Brenner K, Paesmans M, Body JJ. Non-malignant causes of hypercalcemia in cancer patients: a frequent and neglected occurrence. *Support. Care Cancer*. 2013;21:1415–1419.
109. Wermers RA, Kearns AE, Jenkins GD, Melton LJ. Incidence and Clinical Spectrum of Thiazide-associated Hypercalcemia. *Am. J. Med*. 2007;120:e9–e15.
110. Stewart AF. Clinical practice. Hypercalcemia associated with cancer. *N. Engl. J. Med*. 2005;352:373–379.
111. Donovan PJ, Sundac L, Pretorius CJ, D'Emden MC, McLeod DSA. Calcitriol-mediated hypercalcemia: Causes and course in 101 patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2013;98:4023–4029.
112. Hattori N, Nakamaki T, Ariizumi H, et al. Over-expression of CCL3 MIP-1alpha in a blastoid mantle cell lymphoma with hypercalcemia. *Eur. J. Haematol*. 2010;84:448–452.
113. Martens P, Addissie B, Kumar R. Follicular lymphoma presenting with hypercalcaemia: An unusual mechanism of hypercalcaemia. *Acta Clin. Belg*. 2015;70:200–203.
114. Kitazawa S, Kitazawa R. RANK ligand is a prerequisite for cancer-associated osteolytic lesions. *J. Pathol*. 2002;198:228–236.
115. Pearce RN, Sordillo EM, Yaccoby S, et al. Multiple myeloma disrupts the TRANCE/osteoprotegerin cytokine axis to trigger bone destruction and promote tumor progression. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2001;98:11581–11586.
116. Malpica L, Pimentel A, Reis IM, et al. Epidemiology, clinical features, and outcome of HTLV-1-related ATLL in an area of prevalence in the United States. *Blood Adv*. 2018;2:607–620.
117. Nosaka K, Miyamoto T, Sakai T, et al. Mechanism of hypercalcemia in adult T-cell leukemia: overexpression of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand on adult T-cell leukemia cells. *Blood*. 2002;99:634–640.
118. Barcala V, Ruybal P, Garcia Rivello H, et al. RANKL expression in a case of follicular lymphoma. *Eur. J. Haematol*. 2003;70:417–419.
119. Shibata H, Abe M, Hiura K, et al. Malignant B-lymphoid cells with bone lesions express receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and vascular endothelial growth factor to enhance osteoclastogenesis. *Clin. Cancer Res*. 2005;11:6109–6115.

120. Fiumara P, Snell V, Li Y, et al. Functional expression of receptor activator of nuclear factor kappaB in Hodgkin disease cell lines. *Blood*. 2001;98:2784–2790.
121. Choi SJ, Cruz JC, Craig F, et al. Macrophage inflammatory protein 1-alpha is a potential osteoclast stimulatory factor in multiple myeloma. *Blood*. 2000;96:671–675.
122. Abe M, Hiura K, Wilde J, et al. Role for macrophage inflammatory protein (MIP)-1alpha and MIP-1beta in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *Blood*. 2002;100:2195–2202.
123. Han JH, Choi SJ, Kurihara N, et al. Macrophage inflammatory protein-1alpha is an osteoclastogenic factor in myeloma that is independent of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand. *Blood*. 2001;97:3349–3353.
124. Matsushashi Y, Tasaka T, Uehara E, et al. Diffuse large B-cell lymphoma presenting with hypercalcemia and multiple osteolysis. *Leuk. Lymphoma*. 2004;45:397–400.
125. Nagai Y, Yamato H, Akaogi K, et al. Role of Interleukin-6 in Uncoupling of Bone In Vivo in a Human Squamous Carcinoma Coproducing Parathyroid Hormone-Related Peptide and Interleukin-6. *J. Bone Miner. Res.* 1998;13:664–672.
126. Yoneda T, Alsina MA, Chavez JB, et al. Evidence that tumor necrosis factor plays a pathogenetic role in the paraneoplastic syndromes of cachexia, hypercalcemia, and leukocytosis in a human tumor in nude mice. *J. Clin. Invest.* 1991;87:977–985.
127. Daroszewska A, Bucknall RC, Chu P, Fraser WD. Severe hypercalcaemia in B-cell lymphoma: Combined effects of PTH-rP, IL-6 and TNF. *Postgrad. Med. J.* 1999;75:672–674.
128. Insogna KL, Weir EC, Wu TL, et al. Co-purification of transforming growth factor like activity with PTH-like and bone-resorbing activities from a tumor associated with humoral hypercalcemia of malignancy. *Endocrinology*. 1987;120:2183–2185.
129. Sato S, Futakuchi M, Ogawa K, et al. Transforming growth factor beta derived from bone matrix promotes cell proliferation of prostate cancer and osteoclast activation-associated osteolysis in the bone microenvironment. *Cancer Sci.* 2008;99:316–323.
130. Niitsu Y, Urushizaki Y, Koshida Y, et al. Expression of TGF-beta gene in adult T cell leukemia. *Blood*. 1988;71:263–266.
131. Sato K, Fujii Y, Kasono K, et al. Parathyroid hormone-related protein and interleukin-1 α synergistically stimulate bone resorption in vitro and increase the serum calcium concentration in mice in vivo. *Endocrinology*. 1989;124:2172–2178.

132. Hicks DG, Gokan T, O'Keefe RJ, et al. Primary lymphoma of bone. Correlation of magnetic resonance imaging features with cytokine production by tumor cells. *Cancer*. 1995;75:973–980.
133. Weisdorf D, Katsanis E, Verfaillie C, et al. Interleukin-1 alpha administered after autologous transplantation: a phase I/II clinical trial. *Blood*. 1994;84:2044–2049.
134. Tian E, Zhan F, Walker R, et al. The Role of the Wnt-Signaling Antagonist DKK1 in the Development of Osteolytic Lesions in Multiple Myeloma. *N. Engl. J. Med*. 2003;2483–2494.
135. Qiang Y, Chen Y, Stephens O, et al. Myeloma-derived Dickkopf-1 disrupts Wnt-regulated osteoprotegerin and RANKL production by osteoblasts: a potential mechanism underlying osteolytic bone lesions in multiple myeloma. *Blood*. 2008;112:196–207.
136. Lazarevic V, Wahlin A, Hultdin M, Zhan F, Shaughnessy J. Chronic lymphocytic leukemia with osteolytic Richter's syndrome mimicking myeloma bone disease shows no over-expression of DKK1. *Blood*. 2006;47:1987–1988.
137. Cafforio P, Savonarola A, Stucci S, et al. PTHrP produced by myeloma plasma cells regulates their survival and pro-osteoclast activity for bone disease progression. *J. Bone Miner. Res*. 2014;29:55–66.
138. Nakayama-Ichihama S, Yokote T, Iwaki K, et al. Hypercalcaemia in diffuse large B-cell lymphoma with expression of both parathyroid hormone-related protein and its receptor. *Br. J. Haematol*. 2011;154:2.
139. Wada S, Kitamura H, Matsuura Y, et al. Parathyroid hormone related protein as a cause of hypercalcemia in B-cell type malignant lymphoma. *Intern. Med*. 1992;31:968–972.
140. Horwitz MJ, Tedesco MB, Sereika SM, et al. Continuous PTH and PTHrP infusion causes suppression of bone formation and discordant effects on 1,25(OH)₂ vitamin D. *J. Bone Miner. Res*. 2005;20:1792–1803.
141. Stewart AF, Horst R, Deftos LJ, et al. Biochemical Evaluation of Patients with cancer-associated hypercalcemia: evidence for humoral and nonhumoral groups. *N. Engl. J. Med*. 1980;303:1377–1383.
142. Mudde AH, van den Berg H, Boshuis PG, et al. Ectopic production of 1,25-dihydroxyvitamin D by B-cell lymphoma as a cause of hypercalcemia. *Cancer*. 1987;59:1543–1546.

143. Hewison M, Kantorovich V, Liker HR, et al. Vitamin D-mediated hypercalcemia in lymphoma: evidence for hormone production by tumor-adjacent macrophages. *J. Bone Miner. Res.* 2003;18:579–582.
144. Burt ME, Brennan MF. Incidence of hypercalcemia and malignant neoplasm. *Arch. Surg.* 1980;115:704–707.
145. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood.* 2004;103:275–282.
146. Sternlicht H, Glezerman IG. Hypercalcemia of malignancy and new treatment options. *Ther. Clin. Risk Manag.* 2015;11:1779–1788.
147. Van Acker HH, Anguille S, Willemsen Y, Smits EL, Van Tendeloo VF. Bisphosphonates for cancer treatment: Mechanisms of action and lessons from clinical trials. *Pharmacol. Ther.* 2015;158:24–40.
148. Major P, Lortholary A, Hon J, et al. Zoledronic acid is superior to pamidronate in the treatment of hypercalcemia of malignancy: a pooled analysis of two randomized, controlled clinical trials. *J Clin.Oncol.* 2001;19:558–567.
149. Scrucca L, Santucci A, Aversa F. Competing risk analysis using R : an easy guide for clinicians. *Bone Marrow Transplant.* 2007;40:381–387.
150. R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
151. Buske C, Hoster E, Dreyling M, et al. The Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) separates high-risk from intermediate- or low-risk patients with advanced-stage follicular lymphoma treated front-line with rituximab and the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) with respect to treatment outcome. *Blood.* 2006;108:1504–1508.
152. Salar A, Sierra J, Gandarillas M, et al. Autologous stem cell transplantation for clinically aggressive non-Hodgkin's lymphoma: the role of preparative regimens. *Bone Marrow Transplant.* 2001;27:405–412.
153. Jabbour E, Peslin N, Arnaud P, et al. Prognostic value of the age-adjusted International Prognostic Index in chemosensitive recurrent or refractory non-Hodgkin's lymphomas treated with high-dose BEAM therapy and autologous stem cell transplantation. *Leuk. Lymphoma.* 2005;46:861–867.

154. Mounier N, Canals C, Gisselbrecht C, et al. High-Dose Therapy and Autologous Stem Cell Transplantation in First Relapse for Diffuse Large B Cell Lymphoma in the Rituximab Era: An Analysis Based on Data from the European Blood and Marrow Transplantation Registry. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2012;18:788–793.
155. Robinson SP, Canals C, Luang JJ, et al. The outcome of reduced intensity allogeneic stem cell transplantation and autologous stem cell transplantation when performed as a first transplant strategy in relapsed follicular lymphoma: an analysis from the Lymphoma Working Party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48(11):1409–14.
156. Gregori S, Casorati M, Amuchastegui S, et al. Regulatory T Cells Induced by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and mycophenolate mofetil treatment mediate transplantation tolerance. *J. Immunol.* 2001;167:1945–1953.
157. Drozdenko G, Scheel T, Heine G, Baumgrass R, Worm M. Impaired T cell activation and cytokine production by calcitriol-primed human B cells. *Clin. Exp. Immunol.* 2014;178:364–372.
158. Kim JH, Kim WS, Hong JY, et al. Epstein-Barr virus EBNA2 directs doxorubicin resistance of B cell lymphoma through CCL3 and CCL4-mediated activation of NF-kB and Btk. *Oncotarget.* 2017;8:5361–5370.
159. Lwin T, Hazlehurst LA, Li Z, et al. Bone marrow stromal cells prevent apoptosis of lymphoma cells by upregulation of anti-apoptotic proteins associated with activation of NF-kappaB (RelB/p52) in non-Hodgkin's lymphoma cells. *Leukemia.* 2007;21:1521–1531.
160. Ahern E, Harjunpää H, O'Donnell JS, et al. RANKL blockade improves efficacy of PD1-PD-L1 blockade or dual PD1-PD-L1 and CTLA4 blockade in mouse models of cancer. *Oncoimmunology.* 2018;7:e1431088
161. HAS. Commission de la Transparence. Avis du 11/04/2012. XGEVA – Consulté le 15/07/18. URL : <https://www.amgen.fr/~media/amgen/full/www-amgen-com/www-amgen-fr/downloads/fr-pdf-022.ashx?la=fr-FR>.

~

Les illustrations : **Figure 4, Figure 6, Figure 7, Figure 12, Figure 13** ont été réalisées avec des illustrations du service d'illustration « *Servier Medical Art* » sous licence *Creative Common Attribution 3.0 Generic*. <http://smart.servier.com>.

9. ANNEXES

9.1.Définition de l'hypercalcémie selon les publications

Premiers auteurs	Année de publication	Valeur seuil (mM)	Références
Warwick	1961	2,75	38
Burt	1980	2,7 x 2 ou 2,75 x1	144
Burtis	1990	NP	40
Ralston	1990	2,80*	39
Vassilopoulou-Sellin	1993	2,7	41
Seymour	1994	2,75*	46
Firkin	1996	2,5*	42
Beaudreuil	1997	NP	47
Majumdar	2002	LSL	49
Donovan	2015	2,55	44
Gastanaga	2016	LSL*	37
Lehners	2017	NP	48
Jin	2017	2,55*	45
Shallis	2017	2,625*	43

LSL : limite supérieure du laboratoire ; NP : non précisé ; *calcul de la calcémie corrigée réalisé par les auteurs

9.2. Classification de Ann Arbor

La classification de Ann Arbor, détaillée ci-dessous, stratifie les patients selon la/les localisation(s) tumorales.¹⁴

Notation	Description	
Stade I	Localisé	Atteinte d'un seul groupe ganglionnaire
Stade II		Atteinte de deux ou plusieurs groupes ganglionnaire sus ou sous-diaphragmatiques.
Stade III	Disséminé	Atteintes sus et sous-diaphragmatiques
Stade IV		Atteinte extra-ganglionnaire non contiguë
A	Suffixe	Absence de signes généraux
B		Présence de signes d'évolutivité : • Perte de poids involontaire de plus de 10% du poids du corps en moins de 6 mois • Fièvre inexpliquée, persistante de plus de 38°C • Sueurs nocturnes profuses
X		Volumineuse masse tumorale (<i>bulky</i>) : • Masse tumorale de plus de 10 cm • Masse médiastinale de diamètre égal ou supérieur au tiers du diamètre transverse thoracique au niveau du disque intervertébral T5-T6 (sur un cliché thoracique de face)
E		Atteinte extra-ganglionnaire contiguë

9.3. Scores de prévision du pronostic utilisés lors de l'étude rétrospective

9.3.1. Score IPI

Le calcul du score IPI se fait en additionnant le nombre de paramètres présentés par le patient évalué¹⁵ :

- Age > 60 ans
- LDH élevées
- *Performance status* > 1
- Stade Ann Arbor III/IV
- Atteinte extra-nodale : n>1

Les patients à haut risque (SG à 5 ans : 32 à 46%) ont un score IPI ≥ 3 .

9.3.2. Score FLIPI

Le calcul du score FLIPI se fait en additionnant le nombre de paramètres présentés par le patient évalué²⁵ :

- Age ≥ 60 ans
- Stade Ann Arbor III/IV
- Hémoglobine < 120 g/L
- LDH élevées
- Atteinte extra-nodale : n>4

Les patients à haut risque (SG à 5 ans : 52,5%) ont un score FLIPI ≥ 3 .

9.3.3. Score de Hasenclever

Le calcul du score FLIPI se fait en additionnant le nombre de paramètres présentés par le patient évalué²⁹ :

- sAlbumine < 4 g/dL
- Hémoglobine < 10,5 g/dL
- Sexe masculin
- Stade Ann Arbor IV
- Age ≥ 45 ans
- Leucocytes $\geq 15,0 \cdot 10^9/L$
- Lymphocytes < $0,6 \cdot 10^9/L$ ou <8% des leucocytes totaux.

Les patients à haut risque (SSP à 5 ans : 55%) ont un score de Hasenclever ≥ 3 .

9.4. Références des cas publiés utilisés pour la revue de la littérature

PMID	Année	Journal	Premier auteur
28090186	2016	Malays J Med Sci.	Mir SA
27737327	2016 (epub)	Arch Endocrinol Metab	Soutelo J
27408382	2016	Indian J Hematol Blood Transfu	Jain A
27411665	2016	Indian J Dent Res.	Vasudevan V
26917902	2016	Indian J Nucl Med	Shimpi MM
27124160	2016	J Community Hosp Intern Med Perspect	Abaroa-Savaterra A
26337317	2015	Tunis Med	Zaibi H
26187868	2015	BMJ Case Rep	Ong DM
25435965	2015	Oncol Lett	Ding L
25373378	2014	Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi	Iida T
25332546	2014	Indian J Hematol Blood Transfu	Shah BK
25038766	2014	Cancer Res Treat.	Ha JM
24604795	2014	BMJ Case Rep	Mandal SK
24228183	2013	Case Rep Oncol	Ali H
24224628	2013	N Engl J Med	Barnes JA
23888223	2013	Rare Tumors.	Barbaryan A
23739761	2013	J Am Osteopath Assoc	Luceri PM
23605839	2013	BMJ Case Rep	Nayak HK
26425574	2013	J Investig Med High Impact Case Repo	Alhaj Moustafa M
23245530	2013	Med Clin (Barc)	Sanchez Sobrino P
22873536	2012	N Engl J Med	Fathi AT
22665556	2012	BMJ Case Rep	Petousi
21675892	2012	N Engl J Med	Kavanagh
22124262	2011	Pathology	Nakayama-Ichiyama S
22083203	2011	Gan To Kagaku Ryoho	Hong G
22045306	2011	Int J Hematol	Chinen Y
25984161	2011	NDT Plus	Neild GH
21924823	2011	Clin Neurol Neurosurg	Patejdl
20959010	2010	J Med Case Rep	Ghazi AA
20561035	2010	Eur J Haematol	Chevalier N
20379806	2010	Int J Hematol	Chen P
21121838	2010	N Engl J Med	Brizendine K
20050882	2010	Eur J Haematol	Hattori N
19419919	2009	Kaohsiung J Med Sci	Hsiao HH
18164274	2008	Ann Endocrinol (Paris)	Amezyane T
18092163	2008	Ann Hematol	Chang PY
17656242	2007	Urology	Klatte T
18089880	2007	J Clin Oncol	Habra MA
21748111	2007	Sultan Qaboos Univ Med J	Burney IA
17544176	2007	Rev Med Interne	Frein D
17194651	2006	Haematologica	Schöttker B

16443552	2006	Int J Hematol	Svensson AM
15605670	2004	Int J Clin Pract.	Lydakakis C
14583422	2003	Endocr Pract	Rizvi AA
12729326	2003	Intern Med.	Narimatsu H
12708052	2003	Nihon Ronen Igakkai Zasshi	Ota H
12619944	2003	J Bone Miner Res.	Hewison M
12581194	2003	Eur J Haematol	Shimizu S
12506188	2003	J Clin Oncol	Freeman NJ
12481496	2002	An Med Interna	Alama Zaragoza MA
12477946	2002	N Engl J Med	Erban JK
12412704	2002	Eur Respir J.	Al-Mobeireek AF
12358896	2002	Br J Haematol	Hsiao LT
12147666	2002	J Clin Pathol.	Majumbar G
11744812	2002	Nephron	Kinugawa N
11318986	2001	Liver	Nan DN
10621879	1999	Postgrad Med J	Daroszewska A
10350350	1999	Leuk lymphoma	Evron E
10022456	1999	J Clin Endocrinol Metab	Adams JS
9792597	1998	Chest	Donnelly TJ
9540767	1998	Ann Hematol	Royen HI
9613993	1998	Leuk lymphoma	Chim CS
9477138	1997	Leuk lymphoma	Al-Fiar FZ
9394851	1997	Oncology	Pezzilli R
8892745	1996	Am J Hematol	Hanihara T
9172822	1996	Leuk lymphoma	Briones J

9.5. Avis du groupe éthique d'aide à la recherche clinique



GROUPES ETHIQUES D'AIDE A LA RECHERCHE CLINIQUE POUR LES PROTOCOLES DE RECHERCHE NON SOUMIS AU COMITE DE PROTECTION DES PERSONNES ETHICS COMMITTEE IN HUMAN RESEARCH

AVIS

Responsable de la recherche : Dr Emmanuel GYAN

Titre du projet de recherche : Etude retrospective évaluant l'impact pronostic de la survenue d'une hypercalémie au cours du suivi des lymphomes

N° du projet : 2017 070

Le groupe éthique d'aide à la recherche clinique donne un avis

☒ FAVORABLE

☐ DÉFAVORABLE

☐ SURSIS A STATUER

☐ DÉCLARATION D'INCOMPÉTENCE

au projet de recherche n° 2017 070

A Tours, le 3 novembre 2017

Dr Béatrice Birmelé
Directrice ERERC

Vu, le Directeur de Thèse

Vu, le Doyen
De la Faculté de Médecine de Tours
Tours, le

RESUME : lignes (20/20)

Contexte : Les caractéristiques et le devenir des patients atteints d'un lymphome avec hypercalcémie n'ont pas été décrits dans une large cohorte, ni comparés à une cohorte de lymphomes sans hypercalcémie.

Méthodes : Après exclusion des causes non spécifiques d'hypercalcémie, les patients suivis à Tours pour un lymphome compliqué d'une hypercalcémie entre 2000 et 2016 ont été sélectionnés. Ils ont été comparés à une cohorte appariée pour l'histologie et les principaux facteurs influençant le pronostic du lymphome.

Résultats : Parmi les 4305 patients atteints d'un lymphome, 62 sont inclus dans la cohorte d'hypercalcémie et 118 patients comparables selon les critères d'appariement constituent la cohorte de contrôle. L'hypercalcémie est observée principalement au diagnostic (71%) chez des patients au pronostic défavorable : lymphome de haut grade (77%) ; stade disséminé (92%) ; LDH élevées (90%). Les lymphomes B diffus à grandes cellules (LBDGC) et folliculaires (LF) sont les principales histologies (68% et 13%, respectivement). La survie globale (SG) à 2 ans est de 41% [intervalle de confiance à 95% (IC)=28-53] et de 78% (IC=70-85) dans le groupe d'hypercalcémie et de contrôle, respectivement ($p < 10^{-3}$). Cette différence en SG est notée dans les sous-groupes de LBDGC [38% (IC=23-52) contre 76% (IC=67-85)] et FL [33% (IC=0-71) contre 83% (IC=54-100)]. La survie sans progression à 2 ans est significativement plus courte dans la cohorte d'hypercalcémie par rapport à la cohorte de contrôle [30% (IC=18-42) contre 64% (IC=55-72), $p < 10^{-3}$]. La survenue d'une hypercalcémie est un facteur associé à une augmentation du risque de mortalité en analyse multivariée (HR=3,85, $p < 10^{-3}$) et l'intensification thérapeutique ne semble pas améliorer la SG à 2 ans, 49% (IC=28-70).

Conclusions : Bien que l'hypercalcémie survienne au cours des lymphomes à haut risque, elle reste indépendamment associée à une augmentation du risque de progression et de mortalité.

Nicolas Vallet

Nombre de pages 107 – 16 tableaux – 22 figures

Résumé :

Contexte : Les caractéristiques et le devenir des patients atteints d'un lymphome avec hypercalcémie n'ont pas été décrits dans une large cohorte, ni comparés à une cohorte de lymphomes sans hypercalcémie.

Méthodes : Après exclusion des causes non spécifiques d'hypercalcémie, les patients suivis à Tours pour un lymphome compliqué d'une hypercalcémie entre 2000 et 2016 ont été sélectionnés. Ils ont été comparés à une cohorte appariée pour l'histologie et les principaux facteurs influençant le pronostic du lymphome.

Résultats : Parmi les 4305 patients atteints d'un lymphome, 62 sont inclus dans la cohorte d'hypercalcémie et 118 patients comparables selon les critères d'appariement constituent la cohorte de contrôle. L'hypercalcémie est observée principalement au diagnostic (71%) chez des patients au pronostic défavorable : lymphome de haut grade (77%) ; stade disséminé (92%) ; LDH élevées (90%). Les lymphomes B diffus à grandes cellules (LBDGC) et folliculaires (LF) sont les principales histologies (68% et 13%, respectivement). La survie globale (SG) à 2 ans est de 41% [intervalle de confiance à 95% (IC)=28-53] et de 78% (IC=70-85) dans le groupe d'hypercalcémie et de contrôle, respectivement ($p < 10^{-3}$). Cette différence en SG est notée dans les sous-groupes de LBDGC [38% (IC=23-52) contre 76% (IC=67-85)] et FL [33% (IC=0-71) contre 83% (IC=54-100)]. La survie sans progression à 2 ans est significativement plus courte dans la cohorte d'hypercalcémie par rapport à la cohorte de contrôle [30% (IC=18-42) contre 64% (IC=55-72), $p < 10^{-3}$]. La survenue d'une hypercalcémie est un facteur associé à une augmentation du risque de mortalité en analyse multivariée (HR=3,85, $p < 10^{-3}$) et l'intensification thérapeutique ne semble pas améliorer la SG à 2 ans, 49% (IC=28-70).

Conclusions : Bien que l'hypercalcémie survienne au cours des lymphomes à haut risque, elle reste indépendamment associée à une augmentation du risque de progression et de mortalité.

Mots clés : hypercalcémie, lymphome, facteur pronostic

Jury :

Président du Jury : Professeur Emmanuel GYAN

Directeur de thèse : Docteur Marjan ERTAULT DE LA BRETONNIERE

Membres du Jury : Professeur Olivier HERAULT

Professeur Claude LINASSIER

Docteur Chantal BARIN-LE GUELLEC

Date de soutenance : 25 septembre 2018