



AMYLOSES EN 2015

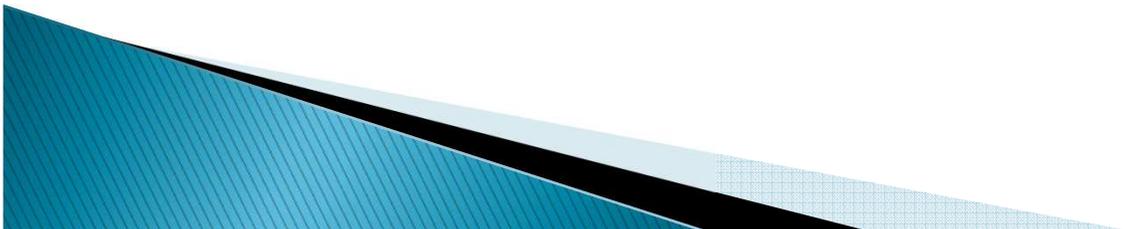
Nadine Magy-Bertrand

Médecine interne- Centre de compétences maladies
systémiques et auto-immunes rares

CHRU Besançon

Liens d'intérêt

- ▶ Prise en charge de la participation à des congrès et des repas
 - Genzyme
 - Actélion
 - Shire
 - Octapharma
 - GSK



Objectifs pédagogiques

▶ Diagnostic des amyloses en 2015

- Connaître les techniques permettant de confirmer le diagnostic et leur fiabilité
- Connaître les examens complémentaires permettant d'évaluer les atteintes d'organe au cours des différents types d'amylose

▶ Pronostic des amyloses en 2015

- Connaître les biomarqueurs pronostiques dans l'amylose AL
- Connaître la valeur des examens complémentaires pour déterminer le pronostic d'une amylose

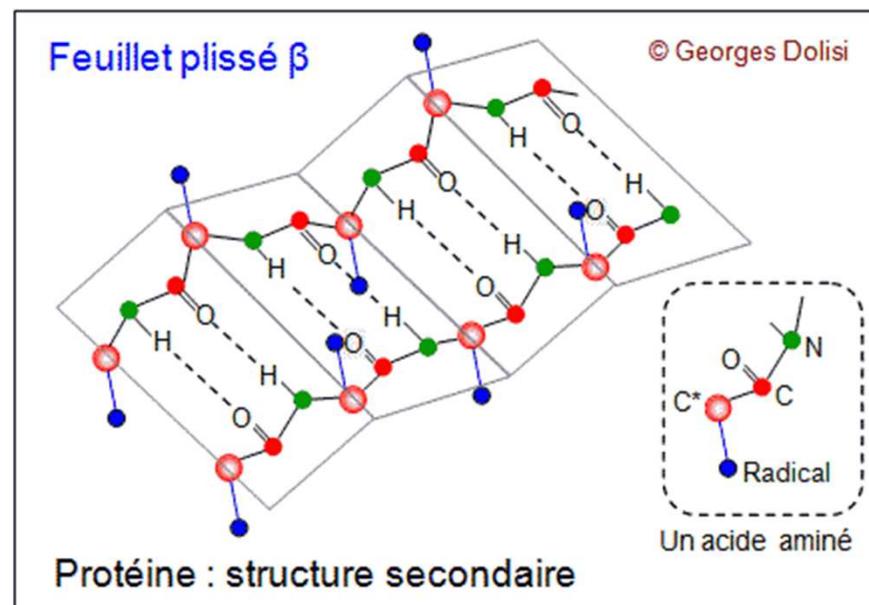
▶ Traitement des amyloses en 2015

- Connaître la démarche thérapeutique globale de l'amylose AL en 2015
- Connaître les possibilités thérapeutiques dans les autres types d'amylose



Avant de commencer...

- ▶ Amylose=maladie de surcharge mais aussi maladie du repliement protéique
- ▶ 31 protéines précurseurs d'amylose
- ▶ Amyloïdogénicité liée à la structure tridimensionnelle β -plissée de la protéine : feuillets bêta anti-parallèles



Structure bêta-plissée

- ▶ Intrinsèque à la protéine = protéine naturellement amyloïdogène
 - Transthyrétine (ou préalbumine) transport du RBP et de la thyroxine
 - Soie
- ▶ Acquisie ou renforcée par certaines mutations, délétions
 - Transthyrétine mutée (130 mutations décrites)
 - Lysozyme
 - Apolipoprotéines A1 et A2
 - SAA (protéine tronquée)
 - AL



PRECURSEUR PROTEIQUE
bêta-plissé et/ou muté

+

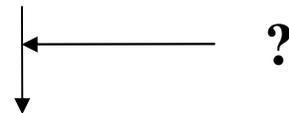
COMPOSANT P

+

AMYLOID-ENHANCING FACTOR

+

INTERACTIONS AVEC LES
GLYCOSAMINOGLYCANES



AMYLOSE

Diagnostic des amyloses en 2015

- ▶ Découverte fortuite sur un tissu prélevé sans arrière-pensée
- ▶ Le contexte clinique est évocateur
 - Neuropathie axonale débutant par les extrémités
 - Cardiomyopathie restrictive
 - Syndrome néphrotique avec protéinurie majeure
 - Antécédents familiaux neurologiques ou rénaux
- ▶ Quel tissu biopsier ?
 - Eviter les biopsies à risque hémorragique : rein, myocarde, foie
 - Privilégier l'aspiration de graisse sous-cutanée et la biopsie de glandes salivaires accessoires
 - Biopsie de sous-muqueuse rectale à visée diagnostique pure : peu pratiquée



Rentabilité des différentes biopsies

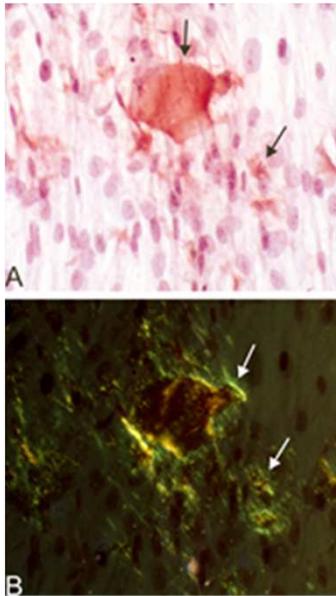
	SENSIBILITE
Biopsie de sous-muqueuse rectale	85 à 97%
Aspiration de graisse sous-cutanée	54 à 82%
Biopsie de glandes salivaires accessoires	54 à 82%

- ❑ Intérêt de combiner l'aspiration de graisse sous-cutanée et la biopsie de glandes salivaires accessoires
- ❑ Difficulté de proposer certaines techniques de typage du dépôt sur la graisse
- ❑ Rentabilité de la technique varie suivant l'opérateur pour l'aspiration de graisse



Diagnostic histologique de l'amylose

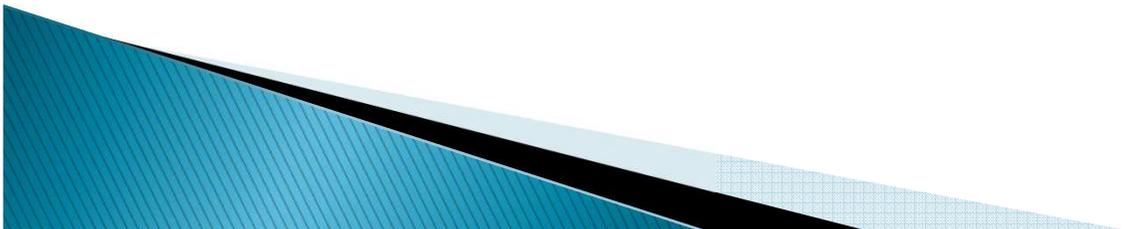
► Confirmation du diagnostic par le rouge Congo



- Dépôts visibles en HES
- Coloration rouge Congo grâce au dépôt du colorant dans la structure bêta-plissée
- Affirmation par la coloration jaune-verte en lumière polarisée
- Attention si blanc en lumière polarisée = collagène
- Pas de diagnostic initial du précurseur
- Autres colorations disponibles : bleu Alcian, thioflavine T

Typage du dépôt = 2^{ème} étape indispensable

- ▶ *Immunohistochimie*
 - Utilisation d'anticorps anti-protéine amyloïde
 - Anti-composant P : confirme le caractère amyloïde du dépôt
 - Anti-SAA : amylose AA
 - Anti-chaînes légères d'immunoglobulines (kappa-lambda) : amylose AL
 - Anti-transthyrétine : amylose SSA et ATTR
 - Autres (*recherche*)
- ▶ *Immunofluorescence*
 - Uniquement sur tissu congelé
 - Meilleure fiabilité pour le diagnostic de l'amylose AL
- ▶ *Immunogold en ME*, peu employé en routine



Si échec des techniques immuno-histochimiques

- ▶ Penser à la biologie moléculaire
 - Micro-dissection laser du dépôt sur lame ou sur bloc de paraffine
 - Protéomique pour rechercher des prévalences protéiques au sein du dépôt
- ▶ Spectrométrie de masse pour identifier la protéine précurseur
- ▶ Identification des mutations des précurseurs
 - Transthyrétine
 - Fibrinogène
 - Lysozyme
 - ApoA1
 - Lect2
- ▶ Avec parfois étude familiale



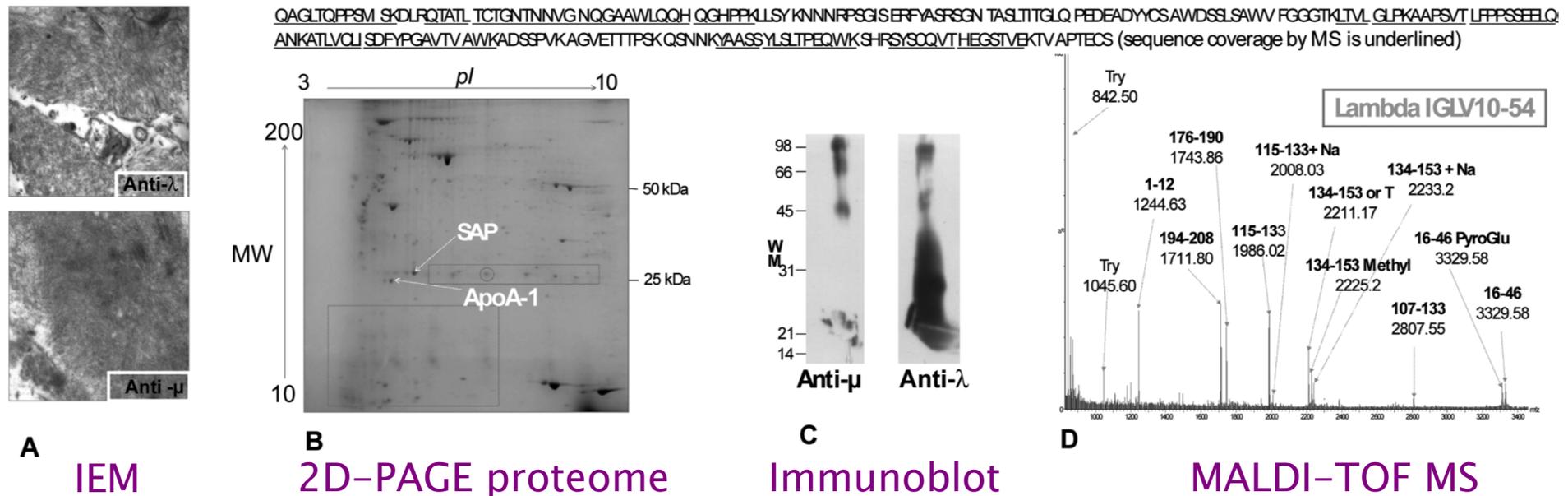
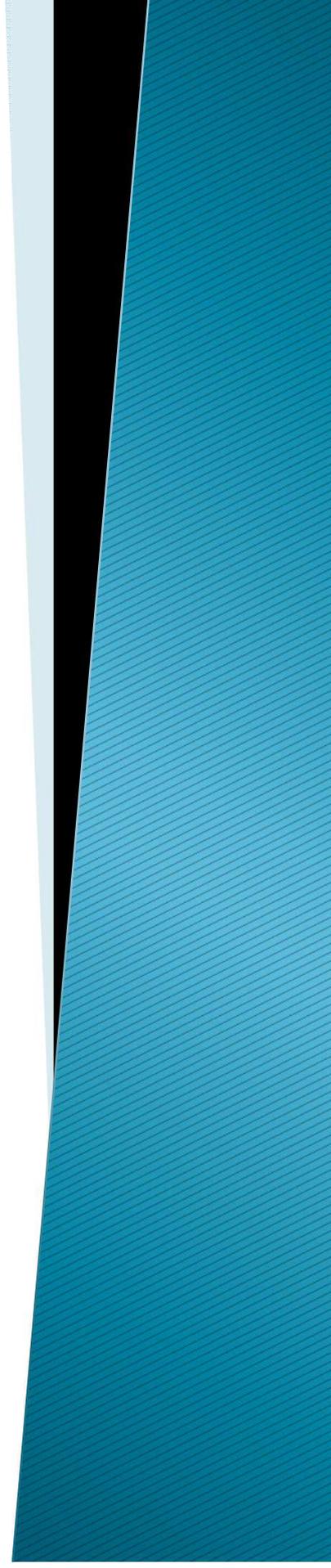


Figure 1. **(A)** IEM scans (17000X) show amyloid fibrils in fat, not specifically labeled by anti- λ LC antibodies (top panel) and anti- μ heavy chains antibodies (bottom panel); **(B)** 2D-PAGE proteome of fat. The spots in the boxed regions (*25 kDa and lower) are not visible in the control map. **(C)** Immunoblot of proteins extracted from fat tissue, separated by SDS-PAGE. Low MW, specifically anti- λ positive species are visible. **(D)** The spots in the boxed region (MALDI-TOF MS spectrum of the circled spot in B) contain tryptic peptide ions corresponding to the theoretical digest of patient's λ LC sequence from bone marrow (above).

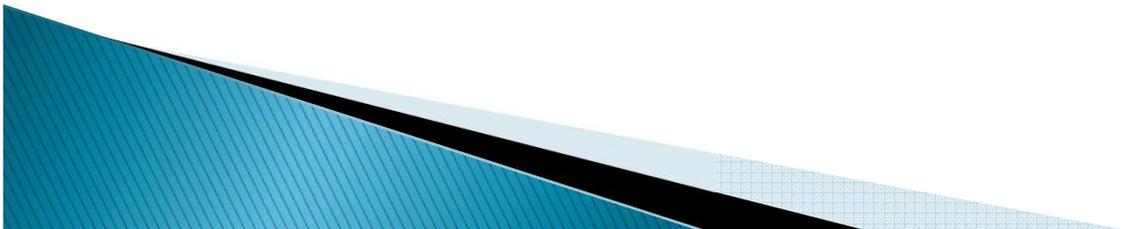
Evaluation du pronostic des amyloses en 2015

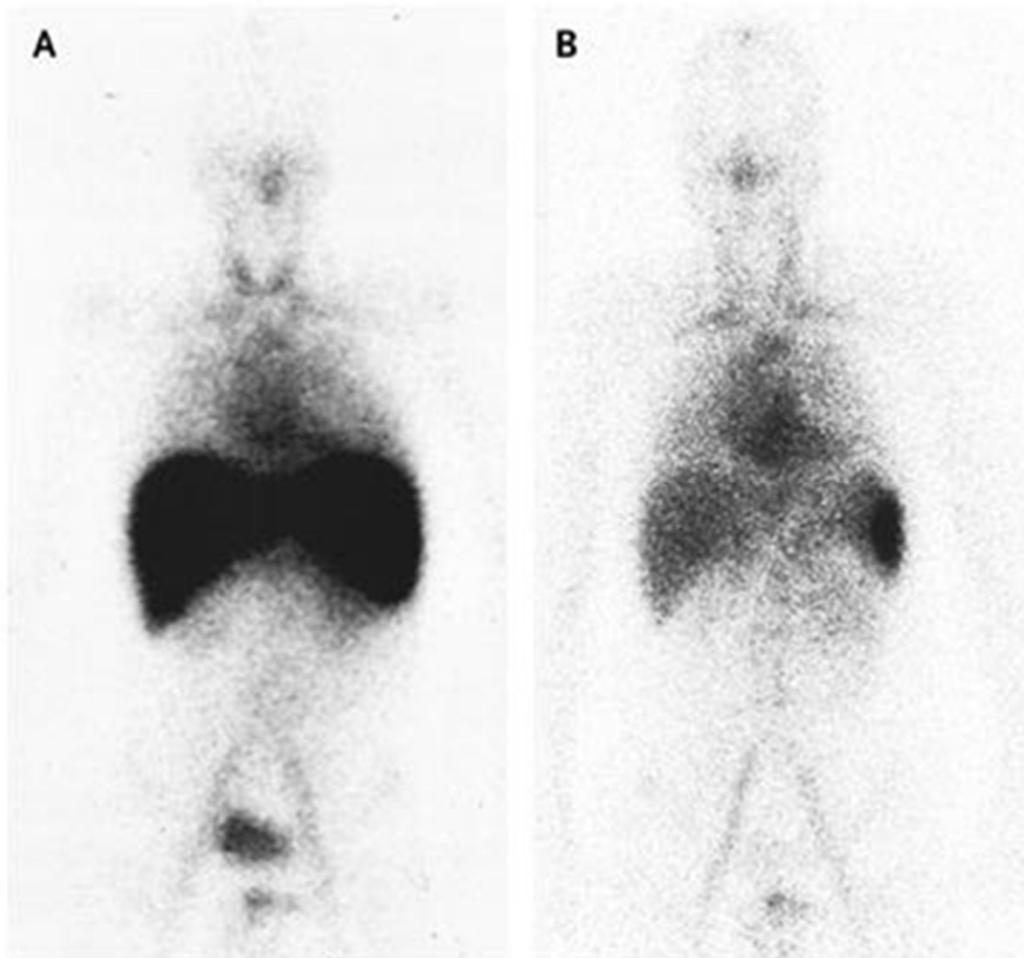


Evaluer les atteintes d'organe au cours de l'amylose

▶ Scintigraphie au composant P marqué à ^{123}I

- Permet d'évaluer la quantité globale d'amylose présente dans l'organisme
- Localise les dépôts et autorise un bilan d'extension
- Evalue la régression ou la progression des dépôts
- Inconvénients
 - Utilisation d'un composé dérivé du sang soumis à autorisation dans la plupart des pays européens
 - Hyperfixation physiologique du cœur et du rein

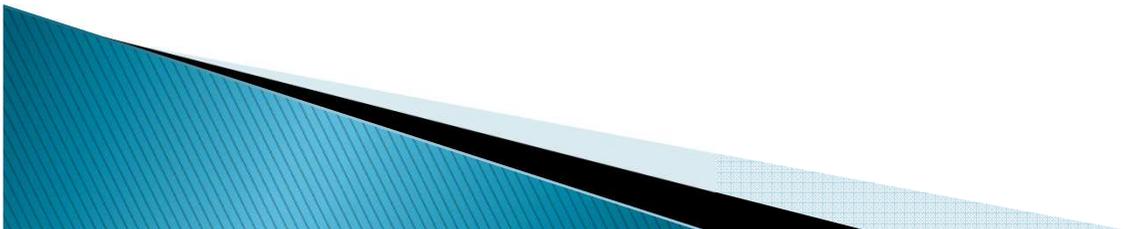




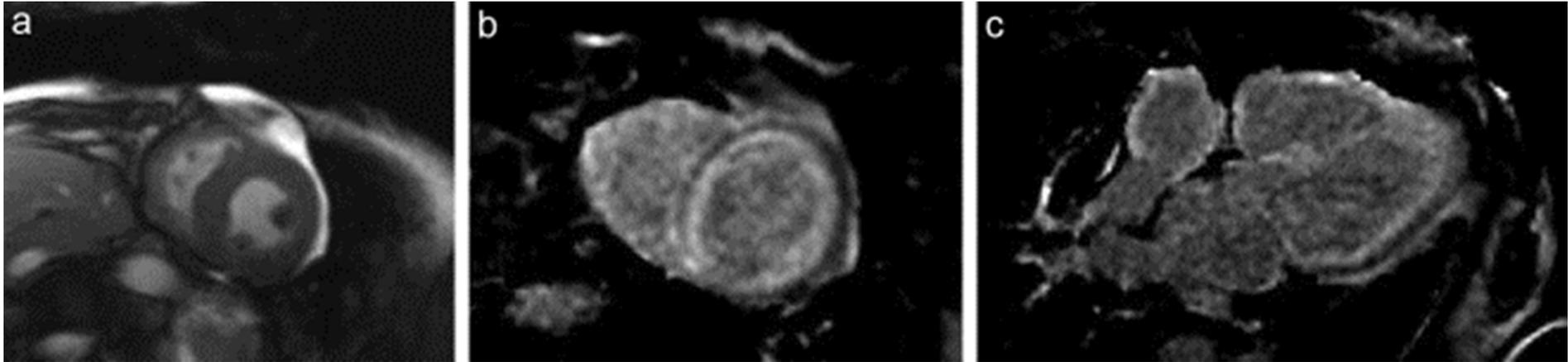
Lachmann HJ et al. N Engl J Med 2007;356:2361-2371

Evaluer les atteintes d'organe au cours de l'amylose

- ▶ Evaluation de la cardiopathie amyloïde
 - Dépistage
 - Echocardiographie
 - IRM cardiaque
 - Scintigraphie myocardique au Technétium
 - Pronostic
 - NT-proBNP
 - Troponine I et T
 - IRM cardiaque
 - Echocardiographie
 - Scintigraphie myocardique au Technétium



IRM CARDIAQUE AU COURS DE L'AMYLOSE



Hypertrophie pariétale des ventricules gauche et droit

- en coupe petit axe (a)
- rehaussement tardif sous-endocardique en coupe petit axe (b)
- image quatre cavités (c).

Réhaussement tardif :

- sensibilité 80–86%, spécificité 86 à 94%, VPP 95%
- sous-endocardique circonférentiel

Les biomarqueurs cardiaques

▶ NT-proBNP

- Une réduction de 30 % de la valeur initiale
- Une valeur de NT-proBNP < 300 ng/L
→ témoins de bonne réponse cardiaque lors du traitement de l'amylose AL
- Bonne corrélation entre la survie au cours amylose AL et la valeur du NT-proBNP
- Attention à l'insuffisance rénale qui majore les chiffres de NT-proBNP

▶ Troponine I et T

- Augmentation de 33 % de la troponine I ou T associée à une nette diminution de la survie des patients



Score pronostique d'atteinte cardiaque au cours de l'amylose AL

Stades	Troponine T et NT-proBNP
I	Troponine T < 0,035 µg/L et NT-proBNP < 332ng/L
II	Troponine T > 0,035 µg/L ou NT-proBNP > 332ng/L
III	Troponine T > 0,035 µg/L et NT-proBNP > 332ng/L

avec le BNP seuil à 100 ng/L et avec la troponine us seuil à 0,07 µg/L

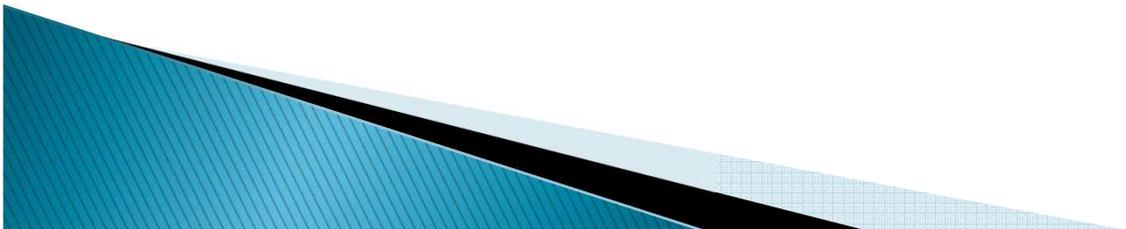
Les différentes scintigraphies myocardiques

Mécanisme physiologique cardiaque exploré	Technique d'imagerie nucléaire (SPECT)
Innervation cardiaque	^{123}I -MIBG
Métabolisme cardiaque	^{123}I -BMIPP $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}$ -DMSA
Perfusion cardiaque	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi et ^{201}Tl
Dépôts amyloïdes	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -aprotinine $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -(pyro)phosphate ^{67}Ga ^{111}In -actomyosine anticorps
Fonction ventriculaire cardiaque	Ventriculographie avec radionuclide

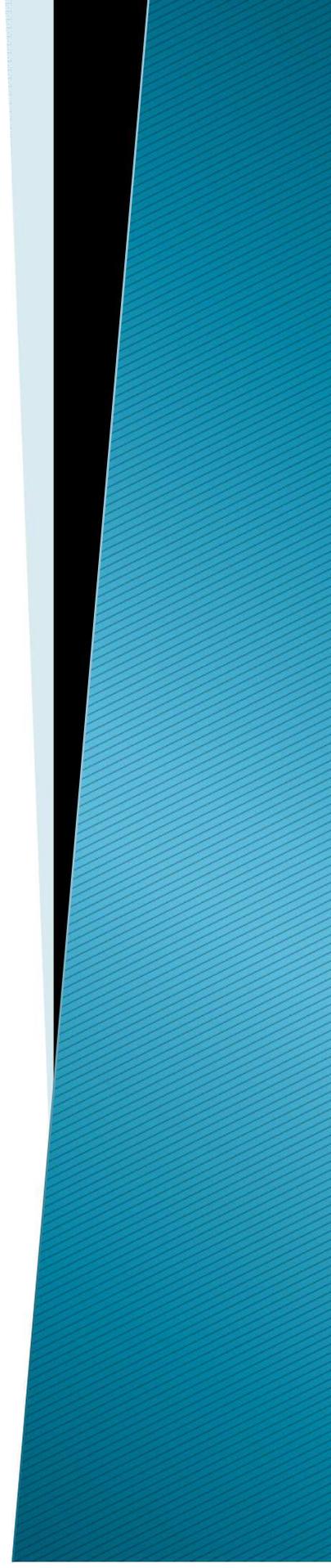
La scintigraphie au Technétium peut différencier l'amylose cardiaque AL de l'amylose à TTR avec une fixation plus importante du traceur dans l'amylose à TTR.

Evaluer la réponse hématologique

- ▶ Evaluation de la réponse hématologique
 - Differential free light chain (DFLC)
 - Exemple de calcul du DFLC :
 - Lambda : 254 mg/L
 - Kappa : 24 mg/L
 - $DFLC = 254 - 24$ soit 230 mg/L
 - **La rémission complète** est définie par
 - Une protéinurie de Bence-Jones négative et
 - Un ratio kappa/lambda normal
 - **Le patient très bon répondeur** est défini par
 - Un $DFLC < 40$ mg/L
 - **Le patient répondeur partiel** est défini par
 - Une diminution du DFLC d'au moins 50%
 - Dans tous les autres cas, le patient est non-répondeur



Traitement des amyloses en 2015



Traitement de l'amylose AL

- ▶ But : réduire à un taux minimum la protéine monoclonale responsable des dépôts
- ▶ Amylose AL = excès de synthèse par rapport aux capacités d'élimination
- ▶ Donc : stop synthèse = régression des dépôts et amélioration des dysfonctions d'organe
- ▶ Tous les traitements employés dans le myélome (si prolifération plasmocytaire) ou dans les lymphomes (si prolifération lympho-plasmocytaire)



Traitement de l'amylose AL

- ▶ En première ligne et pour les amyloses IgG et IgA : M-Dex ou autogreffe de cellules souches
- ▶ Critères d'éligibilité pour l'**autogreffe** au cours de l'amylose AL
 - Age \leq 70 ans
 - Troponine T < 0,06 ng/mL
 - NT-proBNP < 5000 ng/L (Gertz et al. *Bone Marrow Transplantation* (2013) **48**, 557-561)
 - Clairance de la créatinine \geq 30 ml/min
 - ECOG performance status <2
 - NYHA classe I ou II
 - Pas plus de 2 organes symptomatiques
 - Pas d'épanchement pleural abondant
 - Pas d'oxygène-dépendance
- ▶ Protocole
 - Recueil de cellules souches sous G-CSF
 - Melphalan 100 à 200 mg/m²
 - Nécessité d'une équipe entraînée pour diminuer la toxicité post-autogreffe
 - Amélioration de la technique : 1994-2003 : 297 patients, 13,8% mortalité, 2004-2008, 124 patients 5,6% mortalité
 - $\frac{3}{4}$ des patients ont une réponse hématologique avec une réponse complète chez 40%

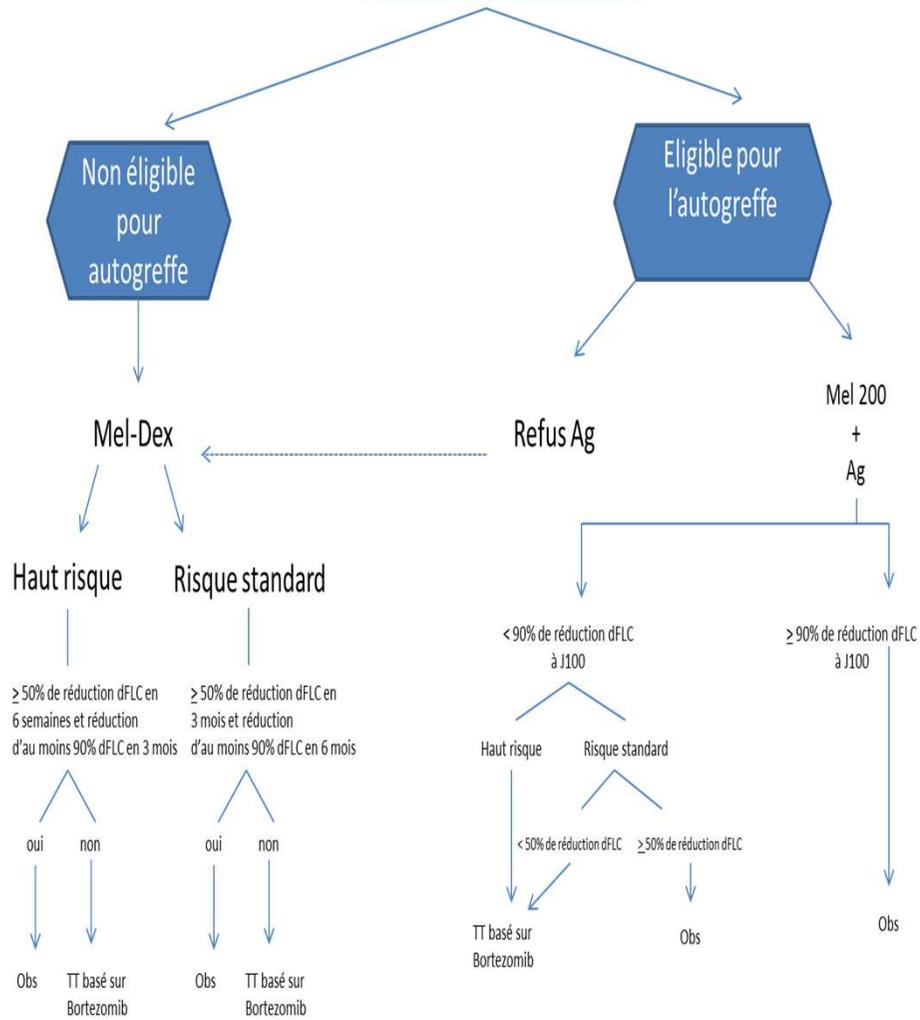


Traitement de l'amylose AL

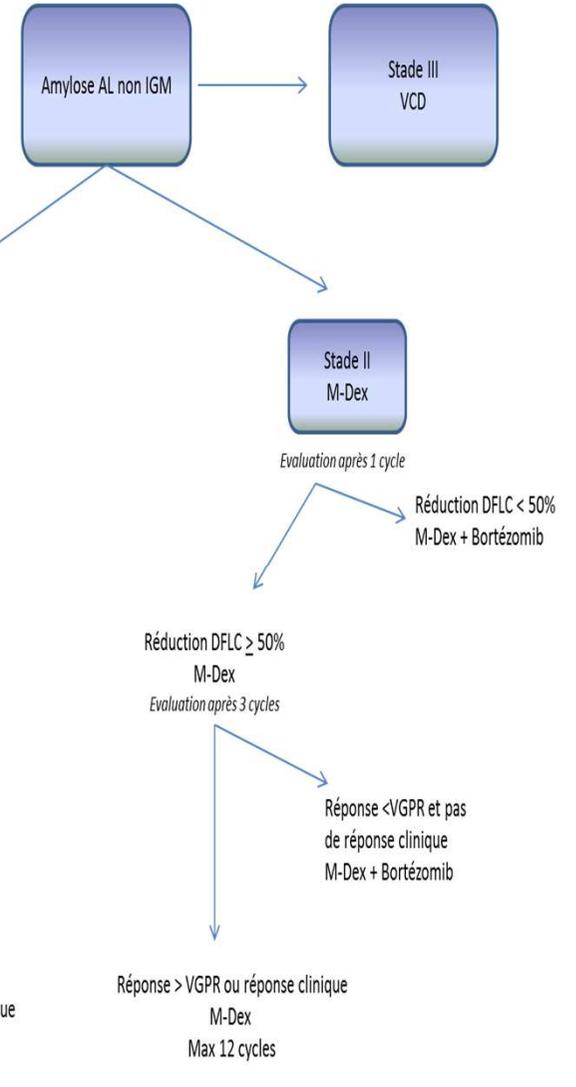
- ▶ **M-Dex**
 - Melphalan 10mg/m²/ j, 4 jours par mois
 - Dexaméthasone 40 mg/ j , 4 jours par mois
 - 2/3 des patients ont une réponse hématologique et une RC survient chez 1/3
- ▶ En fonction du stade de la maladie et de la réponse hématologique des alternatives thérapeutiques seront proposées
 - Bortézomib
 - Thalidomide
 - Lénalinomide
- ▶ Cas particulier des amyloses à IgM
 - Fludarabine-cyclophosphamide-rituximab
 - Cyclophosphamide-dexaméthasone-rituximab
 - Bendamustine-rituximab
- ▶ Cas particulier des atteintes cardiaques sévères
 - Patients traités d'emblée par l'association : bortézomib-cyclophosphamide-dexaméthasone
- ▶ Ne pas oublier les traitements symptomatiques
- ▶ Toujours suivre en simultané la réponse hématologique et la réponse d'organe



AMYLOSE AL



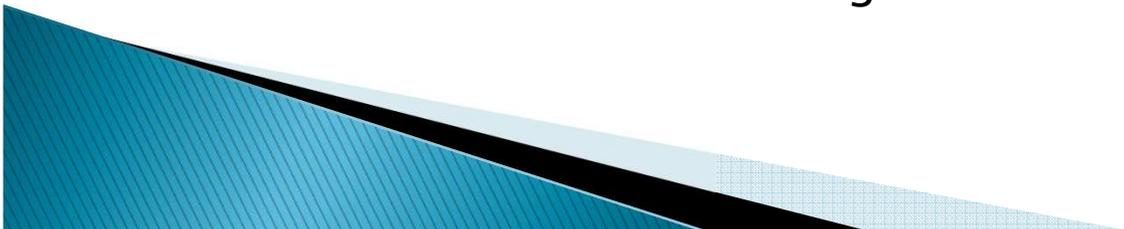
USA



FRANCE

Traitement de l'amylose héréditaire à TTR

- ▶ Contrôle de la synthèse du précurseur
 - La greffe hépatique
 - 25 ans d'expérience, 2000 patients greffés dont 200 en France
 - 98% de réduction de la synthèse du précurseur dans les jours suivant la greffe
 - Les résultats dépendent de la mutation de la TTR, de l'âge du patient et du stade de la maladie
 - Stoppe la progression de la neuropathie amyloïde chez 70 % des patients (V30M) à moyen terme : mais, pas de guérison clinique ou fonctionnelle, pas d'amélioration de la dysautonomie
 - Discussion des double-greffes dans certains cas sévères



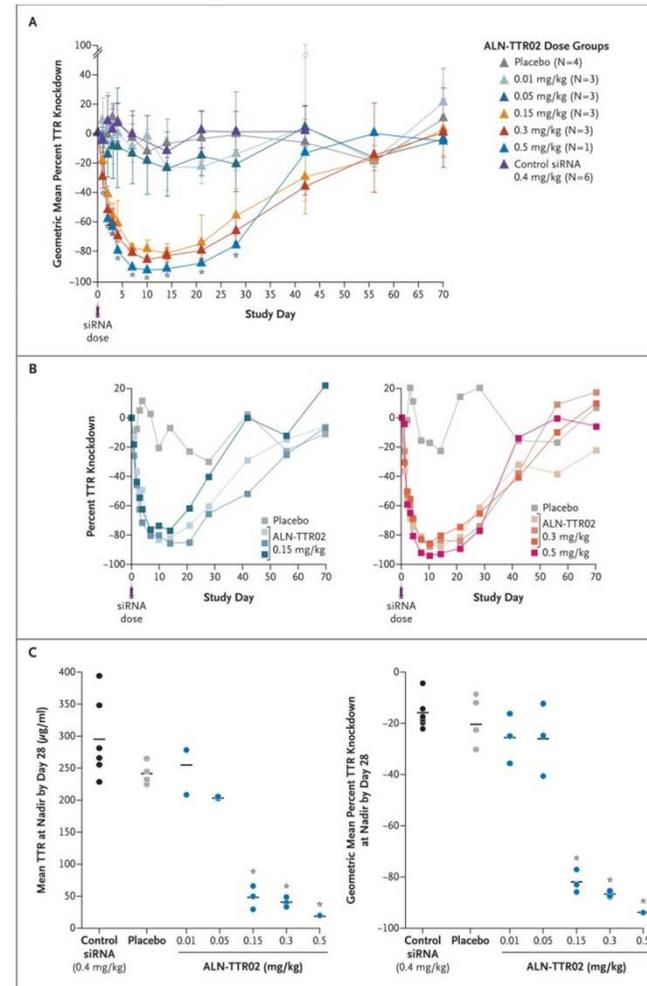
Traitement de l'amylose héréditaire à TTR

▶ Contrôle de la synthèse du précurseur

- siRNA : nanoparticule lipidique

Coelho T et al. N Engl J Med 2013;369:819-829

Réduction de la synthèse de la TTR à J28 chez des volontaires sains



Traitement de l'amylose héréditaire à TTR

- ▶ Contrôle de la synthèse du précurseur
 - ASO : oligonucléotides anti-sens, brins synthétiques courts de nucléotides interférant avec le mRNA TTR
 - Essais chez la souris et le singe prometteurs
 - % de réduction du taux de TTR mutée circulant : 80%
 - Essais de phase II/III en cours chez l'Homme

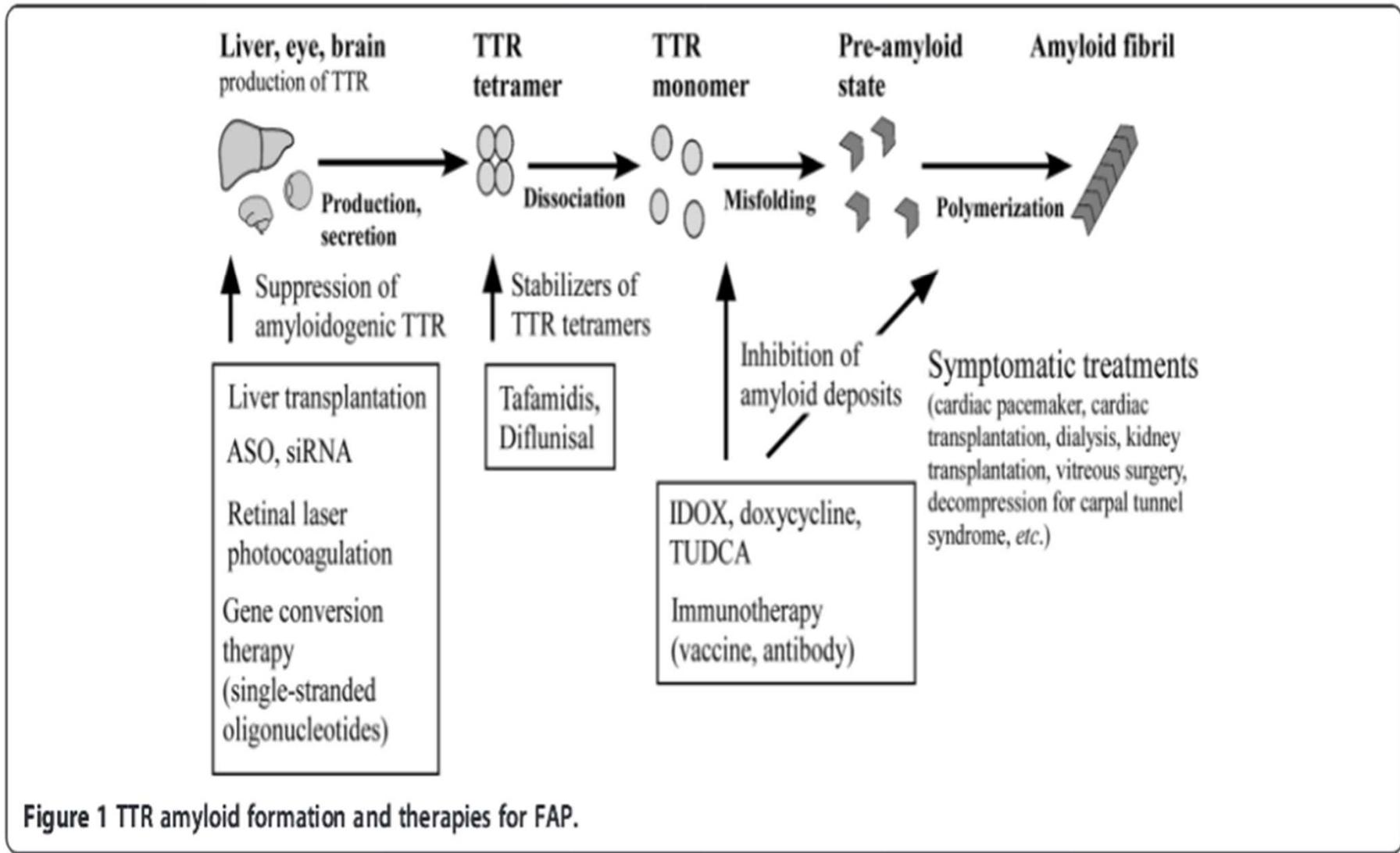
- ▶ Contrôle du composant P
 - Proposé dans tous les types d'amylose
 - Analogue palindromique du composant P : CHPHC
 - Anticorps monoclonal anti-composant P



Traitement de l'amylose héréditaire à TTR

- ▶ Stabilisateurs de TTR mutée
 - TTR amyloïdogène si transformation du tétramère en oligomères soit dimères soit monomères
 - Stabilisateurs de la structure tétramérique
 - Tafamidis (Vyndaqel*) : FAP stade 1
 - Diflunisal : lie les sites de fixation de la T4 sur la TTR
 - Ces 2 molécules sont à l'étude ou indiquées dans la FAP
- ▶ Les inhibiteurs de dépôts amyloïdes
 - Les « casseurs » de fibrilles : composés à base de doxycycline : IDOX, TUDCA : induisent la rupture de fibrilles et donc la clairance des dépôts





Conclusion

- ▶ Des progrès ont été réalisés dans l'identification des amyloses à fort potentiel évolutif
- ▶ Des nouveaux traitements de l'amylose sont expérimentés
- ▶ Que reste-t-il pour l'avenir ?
 - Meilleure connaissance de la physiopathologie
 - Obtenir une clairance des dépôts déjà formés
 - Evaluer de façon plus précoce la réponse d'organe aux traitements

