

Compte rendu de la réunion des centres de référence/compétences « Amylose AL et autres maladies par dépôt d'immunoglobuline monoclonales » le 31 janvier 2014 à Paris

La septième réunion des centres de référence/compétences « Amylose AL et autres maladies par dépôt d'immunoglobulines monoclonales » a eu lieu le 31 janvier 2014 à l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière à Paris. Soixante personnes, ont assisté à cette réunion qui a permis des échanges entre les différentes spécialités présentes, hématologues, Internistes, immunologistes, néphrologues.

Programme

10 h - 12h30 – Présentations et discussion dossiers cliniques

12h30 - 14 h – Déjeuner sur place

14h - 14h20 – Modèles animaux, réussites et échecs, HCDD, amylose AL, reins de myélome.
Sébastien Bender et Christophe Sirac.

14h20 - 14h40 – Maladie de dépôts de chaînes lourdes de type Randall (HCDD), série française.
Vincent Javaugue, Poitiers.

14h40 - 15h30 – Diagnostic des amyloses.

Biopsie de graisse sous-cutanée : technique, rendement diagnostique et pièges.
Corinne Lacombe

Protéomique et spectrométrie de masse: principe, expérience française, pièges, utilisation future. Magali Colombat

15h30 - 16h – Diagnostic différentiel des amyloses cardiaques AL/ TTR mutée/séniles. Thibaud Damy et Dania Mohty

16h20 - 17h30 – Amylose AL : point des traitements en 2014 : Frank Bridoux, Arnaud Jaccard, David Lavergne

Retour ASH

Base de données « amylose AL »

Comparaison des tests pour le dosage des chaînes légères libres.

Résultats de l'attitude consensuelle : M-Dex avec ajout rapide de Velcade pour les non-répondeurs, VCD pour les stades III, R-Benda pour les Amyloses IgM

Protocoles en cours : B-Mdex, Tourmaline, POEMS, MYRE

Futurs protocoles

17h20 - 17h35– Traitement du syndrome de Randall par chimiothérapie à base de bortezomib.
Camille Cohen

17h35 – 18h – Cryoglobulinémie de type I. Stéphanie Harel

Cas clinique

Cette année inaugurerait une session entièrement dédiée à la discussion d'observations cliniques.

- *Présentation notable de maladie de dépôts de chaîne lourde d'immunoglobuline monoclonale de type Randall avec rupture hépatique.*

Le patient est hospitalisé en rhumatologie pour AEG, douleurs rachidiennes et ne présentait pas d'organomégalie à l'admission. Il est transféré en néphrologie à J7 après la découverte d'un MM stade III associé à un syndrome néphrotique impur. L'état du patient se dégrade rapidement avec l'apparition d'un ictère cutanéomuqueux et l'aggravation des marqueurs hépatiques et rénaux. Une thérapeutique Velcade/dexaméthasone est démarrée à J14. L'examen anathomopathologique du foie retrouve une maladie de dépôts de chaînes lourdes. Il décède à J18 par défaillance multifoculaire. La discussion met au premier plan la sévérité de cette atteinte hépatique et le manque de données dans la littérature.

- *Une série reprenant 5 cas de ruptures spléniques.*

La littérature contient peu d'information concernant les ruptures spléniques chez les patients atteints d'une amylose AL. 5 cas ont été colligés par le CHU de Caen et les caractéristiques cliniques décrites. La rupture splénique était un signe inaugurale et grave de l'atteinte pour 4 patients qui semble représenter un critère de gravité indépendant du degré d'atteinte cardiaque. Il s'agit de la série la plus importante décrite à ce jour mais compte tenu de son caractère rétrospectif, un appel est lancé pour recensé un maximum de cas. 3 nouveaux cas ont été identifiés au cours des discussions.

- *Une série évoquant les difficultés de suivi des patients présentant une amylose systémique avec des chaînes légères normale*

Clotilde Muller a décrit une cohorte de patients présentant un taux de chaînes légères normales, extrait de la base amylose. Cette cohorte est définie par un différentiel absolu Kappa-lambda inférieurs à 50 mg et un diagnostic histologique confirmé d'amylose AL. Ces patients représente 11% de l'ensemble des amylose AL systémique inclus dans la base. Les atteintes rénales sont majoritaires, et l'atteinte cardiaque peu grave lorsqu'elle est présente. La maladie évolue lentement sur plusieurs années, sans élévation des CLL. Réponse et progression des atteintes restent difficilement prévisible. La discussion est ouverte autour des caractéristiques intrinsèques de la chaîne légère libre. Le suivi de la réponse doit être réalisé sur le pic monoclonale sérique quand il est visible. Il est noté qu'il serait intéressant de mesurer la quantité de chaînes légères excrétée dans les urines.

- *Un cas de neuropathie par atrophie des petites fibres*
- *1 cas d'amylose associé à une translocation 4-14*
- *1 cas d'amylose associé à une translocation 11-14*

- *1 cas d'amylose AL systémique en insuffisance cardiaque terminale, avec critère d'atteinte cardiaque sur l'IRM et l'échographie. L'histologie sur le cœur explanté ne retrouve pas de dépôts.*
- *1 cas d'amylose AL présentant une dyspnée persystante après transplantation*

Patient présentant une amylose AL prouvée histologiquement avec insuffisance cardiaque terminal. Le patient bénéficie d'une transplantation cardiaque mais lequel l'essoufflement persiste et pose la question d'une atteinte pulmonaire

- *1 cas d'amylose vésicale*
- *1 cas d'amylose ganglionnaire*
- *1 cas d'amylose pulmonaire*
- *1 cas de maladie de Randall en échec thérapeutique sous VCD et RD.*
- *1 cas tubulopathie proximale sévère en IR progressive sous traitement VD.*

Modèle animaux

Les travaux réalisés jusqu'à aujourd'hui dans l'UMR CNRS de Michel Cogné à Limoges ont permis d'obtenir des souris transgéniques sécrétant des chaînes légères et des chaînes lourdes humanisées, par l'approche Knock-In qui consiste à remplacer le gène codant murin par un gène humain (chaîne légère entière ou chaîne lourde), cloné chez un patient atteint de maladies de dépôts d'immunoglobulines.

Cette approche a permis l'obtention d'une souris exprimant une chaîne Gamma 1 humaine, la chaîne lourde pouvant être produite entière ou délétée du CH1. Cette souris est un modèle fonctionnelle de HCDD puisque la chaîne lourde produite donne lieu à des dépôts rénaux de chaînes lourdes qui ont les mêmes caractéristiques que ceux observés chez les malades avec un aspect de glomérulosclérose et une dilatation nodulaire. Les perspectives sont particulièrement intéressantes pour modéliser l'évolution de la maladie

Les multiples constructions faites jusqu'à présent pour obtenir un modèle murin d'amylose AL ont été des échecs. Cela a été attribué à un taux trop faible de chaînes légères libres sériques circulantes du fait d'une sécrétion insuffisante ou d'une association avec les chaînes lourdes de souris. Les tentatives suivantes, notamment en utilisant des souris transgéniques où le gène des chaînes lourdes est remplacé par le gène LMP2A du virus EBV qui mime le signal du BCR, ont permis d'obtenir des taux de CLL sériques plus élevés, proches de celui des patients, mais des dépôts amyloïdes n'ont pu être observés que sur une seule souris. Des essais sont toujours en cours, les tentatives d'autres équipes n'étant pas plus concluantes, restent non comprises.

Diagnostic et typage des maladies de dépôts :

Le diagnostic des maladies de dépôts est réalisé en anatomopathologie par microscopie électronique, associé au test au rouge congo. Le typage est essentiel puisqu'il conditionne la prise en charge thérapeutique des patients. Il est principalement réalisé par immuno-marquage

avec des anti-corps spécifique. La première partie de la session s'est ainsi focalisée sur la description de l'exploration de la biopsie de graisse abdominale. Une alternative plus récente, la protéomique a ensuite été présentée.

Technique de prélèvement de la graisse abdominale sous cutanée

Le prélèvement de graisse abdominale est un geste peu invasif qui peut être réalisé soit au scalpel soit par ponction aspiration à la seringue. A partir de ce prélèvement, trois types de fixation sont utilisées : En glutaraldéhyde pour la microscopie électronique, en Dubosq pour l'inclusion en paraffine et en azote liquide pour l'immunofluorescence. Il est important de noter que 37% des amyloses sont typées quand les prélèvements sont inclus en paraffine alors que seulement 6% restent non typées sur des prélèvements congelés. Le prélèvement destiné à l'IF peut être conservé en sérum physiologique avant la préparation des coupes à congeler. On peut ensuite l'envoyer à 4°C, ce qui pose moins de problème logistique qu'un transport en carboglace et permet un retour plus rapide des résultats.

Pour des résultats optimaux, les coupes congelées doivent être réalisées à 7 µm d'épaisseur aussi bien pour le rouge congo que pour l'IF. L'acétone ayant la propriété de dissoudre les graisses il ne faut jamais l'utiliser sur ce type de prélèvement pour réaliser une fixation avant de réaliser le marquage en immunofluorescence. Les coupes étant plus épaisses, il peut être nécessaire, si les résultats sont négatifs, de faire une incubation overnight des anticorps avant d'affirmer qu'il s'agit d'une amylose non typée.

Le rendement de typage ainsi observé au laboratoire d'anatomopathologie de Poitiers pour la biopsie de graisse sous cutanée, est équivalent à celui de la PBR qui est la biopsie de référence. Les délais sont courts

Protéomique

La protéomique représente une nouvelle approche en matière de typage. Les protéines constitutives des prélèvements sont extraites puis injectées dans un système LC-MSMS. L'analyse et l'interprétation des spectres obtenus, corrélés à la clinique, permettent l'identification des protéines impliquées.

Les premiers essais sur l'amylose ont commencé en 2006 avec des examens en routine depuis 2008. A ce jour, sur près de 6000 cas analysés à la Mayo Clinique, le test est informatif à 98% et présente une sensibilité et une spécificité proche de 100% sur des cas déjà identifiés.

En France, la technique peut être demandée auprès du docteur Magalie Colombat, Service d'anatomie pathologique de Hôpital Foch à Suresnes. Elle est disponible depuis 2012 et fait appel à la plateforme 3P5 de l'université Paris Descartes. Un minimum de 60000 µm² de coupe à 10 µm est nécessaire pour la technique, pour des résultats optimaux 500000 µm² est

préférable. Les contenants plastiques sont à proscrire en raison du risque de relargage de monomère.

Cette technique présente des avantages multiples :

- ✓ Réalisation sur tous les tissus (sauf os)
- ✓ Fragment congelé non indispensable
- ✓ Exploration de l'ensemble des protéines candidates
- ✓ Interprétation simple
- ✓ Susceptible de permettre l'identification de nouvelles protéines amyloïdes

Mais son développement est limité pour le moment :

- ✓ Technique longue → délai de rendu des résultats, 10 à 30 jours
- ✓ Besoin d'un personnel qualifié
- ✓ Technique très innovante: aucun acte à la nomenclature
- ✓ Coût global élevé

Diagnostic d'amylose cardiaque

L'amylose AL et les amyloses à TTR sont des sources d'hypertrophie cardiaque. Leur identification n'est jamais évidente étant donné la multiplicité des cardiomyopathies infiltratives ou de surcharges. Lorsque une amylose cardiaque est suspectée, l'identification précise des dépôts d'amylose (Immunomarquage, protéomique, séquençage génétique) est primordiale puisqu'elle conditionne la suite de la prise en charge : Chimiothérapie dans le cas de l'amylose AL systémique, protocole médicamenteux au long court ou greffe de foie dans la polyneuropathie amyloïde familiale au stade précoce et surveillance avec traitement symptomatique dans les cas des cardiopathies amyloïdes familiales et des cardiopathies amyloïdes séniles.

La caractérisation de l'atteinte cardiaque est également importante car elle conditionne le pronostic des patients.

L'échographie cardiaque est l'examen privilégié, en particulier parce qu'il est non invasif. Il reste difficile de suspecter une étiologie particulière sur des mesures simples, en particulier parce que les paramètres recherchés signalent une atteinte bien avancée. Un certain nombre de facteurs prédictifs de survie peuvent toutefois être mis en évidence comme une élévation du NT-proBNP (8000ng/L), une altération du débit cardiaque (4mL/min), la présence d'épanchement péricardique ou un essoufflement NYHA III/IV.

Les nouvelles techniques d'imagerie échographique en 3D suscitent un intérêt grandissant, en particulier la mesure du strain longitudinal, qui signe l'infiltration du myocarde (VG et OG) et les mesures volumétriques sur la fonction atriale, corrélées à la sévérité de l'atteinte cardiaque

L'IRM ne doit pas être oublié. La recherche de rehaussement tardif est particulièrement informative d'une atteinte cardiaque amyloïde

Base de données du centre de référence

972 patients ont été inclus dans la base de données dont 674 patients avec une amylose AL systémique. Ces données sont issues de 53 centres (courriers de suivi et saisie sur site). La base sera mise à disposition des différents centres qui en feront la demande. Les données pourront être saisies soit directement au niveau du site soit par l'ARC du centre de référence qui se rendra sur place, en particulier pour la mise en place. Une information et l'obtention d'un consentement du patient sont nécessaires pour inclure ses données dans la base.

Les données indispensables au diagnostic et dans le suivi ont été rappelées

- ✓ Taille, poids
- ✓ TA, dyspnée selon NYHA, PS
- ✓ NT-proBNP ou BNP
- ✓ Troponine (cTnT, cTnI, hs-cTnT à préciser)
- ✓ FLC à chaque cycle (préciser si kits Binding-Site ou Siemens)
- ✓ Electrophorèse des protides
- ✓ myélogramme au diagnostic
- ✓ Echo cœur +- IRM initiale (+ Holter si atteinte cardiaque)
- ✓ Créatinine + albumine + protéinurie (avec EP)
- ✓ Phosphatases alcalines+ bilirubine + taille du foie
- ✓ Ferritine (pour détecter les saignements digestifs)

Cette base de données est fonctionnelle pour vos projets. N'hésitez pas à nous contacter pour vos demandes d'extraction.

Amylose AL : point des traitements en 2014

Actualités des protocoles :

BMDex : comparaison M-Dex et M-Dex + bortezomib. 54 patients ont été inclus. En France, 5 centres sont ouverts (Limoges, Nantes, Lyon, Lille, Paris-Saint Louis) et 13 patients ont été inclus. Pour mémoire, l'essai parallèle mené au Etats-Unis a été interrompu l'année dernière pour inclusion insuffisante.

Millenium C16007 : essai de phase I/II testant le MLN9708 dans l'amylose : 1 centre ouvert en France (Limoges). 1 Patient inclus en France, recrutement terminé.

Millenium C16011 : essai de phase III testant le MLN9708 dans l'amylose : MLN9708 + dex versus un traitement choisi par l'investigateur parmi 4 possibilités, 5 centres ouverts (Limoges, Nantes, Lille, Paris, Toulouse). 1 patients a été inclus en France.

POEMS : essai de phase I/II testant le Lénalidomide pour le traitement du syndrome
POEMS : 10 centres ouverts, 9 en cours d'ouvertures, 4 patients inclus.

Pour participer à l'étude: fabienne.auroy@CHU-Limoges.fr ; 05 55 05 86 33

Traitement du syndrome de Randall par chimiothérapie à base de bortezomib.

Le traitement des maladies par dépôts d'immunoglobuline monoclonale non organisés (MIDD) n'est pas codifié. Camille Cohen a présenté les résultats d'un recueil multicentrique de 41 patients avec MIDD traités par Bortezomib. La pathologie LCDD ou HCDD est définie par la présence de dépôt monotypique le long des membranes basales tubulaires ou glomérulaires. Le velcade est administré selon un schéma hebdomadaire ou bihebdomadaire. La réponse hématologique est jugée selon les critères l'«international myeloma working group » et la réponse rénale définie par une baisse de 50% de la protéinurie sans diminution de la clairance supérieur à 25%. L'étude note une différence significative de la présentation de l'atteinte rénale : les LCDD se présente avec une IR plus marquée alors que les HCDD on un syndrome néphrotique plus important.

Le traitement par velcade est efficace avec plus de 80% de réponse dont 65% CR+VGPR. Cette efficacité est notable quel que soit le moment ou le velcade est introduit dans le parcours de soin. Ce taux de réponse hématologique se traduit par un taux de réponse rénale de 50%. Ces résultats se traduisent par une survie supérieur à 90% et une survie sans évolution vers une insuffisance rénale terminale supérieur à 95% pour un suivie de 100 mois.

Cryoglobuline de type I

Une cryoglobuline est immunoglobuline précipitant au froid et se re-solubilisant à chaud. Elle se classe selon trois types :

- ✓ Type I : . Une seule Ig Monoclonale (MIg) ; fréquence de 10 à 15 %
- ✓ Type II : Mixte avec MIg. Une Ig monoclonale + Ig polyclonales; fréquence de 50 à 60 %
- ✓ Type III : Mixte. Ig polyclonales; fréquence de 30 à 40 %

Elles existent avec des taux d'Ig variable et des températures critiques de précipitation comprise entre 10 et 37°C. Elles sont généralement responsables d'obstruction vasculaire mécanique avec ischémie d'aval et de vascularites. La littérature contient peu de données. La série la plus notable est celle de Terrier et al.

Stéphanie Harel a présenté une nouvelle cohorte de 64 cas rétrospectifs de cryoglobuline de type I coligées sur deux centres (CHU de Strasbourg et l'Hôpital Saint Louis). Elle est constituée de 33 femmes et 31 hommes. Pour 60% des cas la cryoglobuline est une IgG et dans 40 % des cas une IgM .L'hémopathie sous jacente est généralement une MGUS ou une forme indolente de myélome ou maladie de Waldenström. Le tableau clinique est différent en fonction de l'isotype et généralement plus grave en présence d'une IgG, ces cryoglobuline étant associée à une fréquence plus importante d'atteinte rénale ou d'ulcère justifiant une surveillance plus rapprochée. Les échanges plasmatiques sont efficaces dans les situations d'urgence (atteinte rénale) mais la priorité doit être accordée au traitement du clone sous jacent. Les nouvelles classes thérapeutique (bortezomib, IMiD's) présente en intérêt certain,

en revanche le rituximab doit être réservé au hémopathie CD20+. Il n'est jamais efficace dans les proliférations plasmocytaire, y compris sur les symptômes de la cryoglobuline.