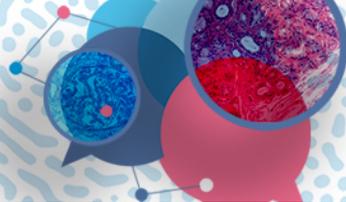


1^{er} CONGRÈS
FRANCOPHONE
MULTIDISCIPLINAIRE
DE
L'AMYLOSE

2012-2022:
retour sur
**10 années
d'innovations**



Vendredi 17 juin 2022

Espace Saint-Martin ■ PARIS

www.congres-amylose.com



Avancées dans le diagnostic des amyloses

Le point de vue de l'«ana-path»

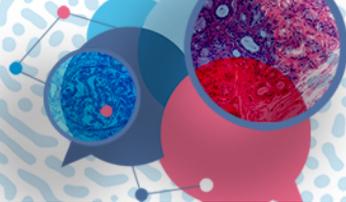


AP-HP.
Hôpitaux universitaires
Henri-Mondor

Dr Elsa Poullot

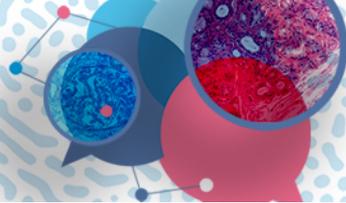
Département d'anatomie et cytologie pathologiques

Hôpital Henri Mondor Créteil



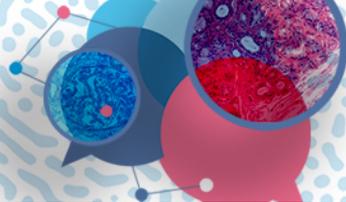
AMYLOSES : DEFINITIONS

- Accumulation dans les tissus de protéines fibrillaires insolubles qui s'y déposent progressivement altérant leur structure et leur fonction
- Vaste groupe de maladies
- Histologie : « Dépôts amorphes, anhistes, acellulaires, éosinophiles en HE(S), colorés en rouge (brique) par le rouge Congo, biréfringence jaune/vert en lumière polarisée »



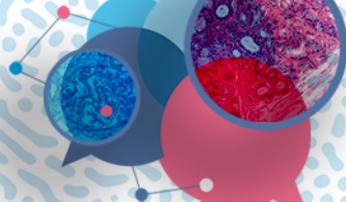
AMYLOSES : COMPOSITION DES DEPOTS

- 95% des dépôts = **protéine spécifique du type d'amylose**
- 5% des dépôts = mélange de protéines et mucopolysaccharides
 - Identiques quelque soit le type d'amylose
 - Apolipoprotéines ApoE, ApoA1, ApoA4, SAP,...



AMYLOSES : COMPOSITION DES DEPOTS

- 95% des dépôts = **protéine spécifique du type d'amylose**
 - 36 variétés différentes
 - Les plus fréquentes : amylose à chaînes légères kappa/lambda (AL), transthyrétine (ATTR) , protéine SAA (AA)
 - **Atteinte d'organe variable** selon le type d'amylose
 - **Traitement différent et spécifique selon le type d'amylose**
- 5% des dépôts = mélange de protéines et mucopolysaccharides
 - Identique quelque soit le type d'amylose
 - Apolipoprotéines ApoE, ApoA1, ApoA4, SAP,...



AMYLOSES : DIAGNOSTIC

- **Présentation clinique spécifique selon type et topographie des dépôts -> Orientation diagnostique**

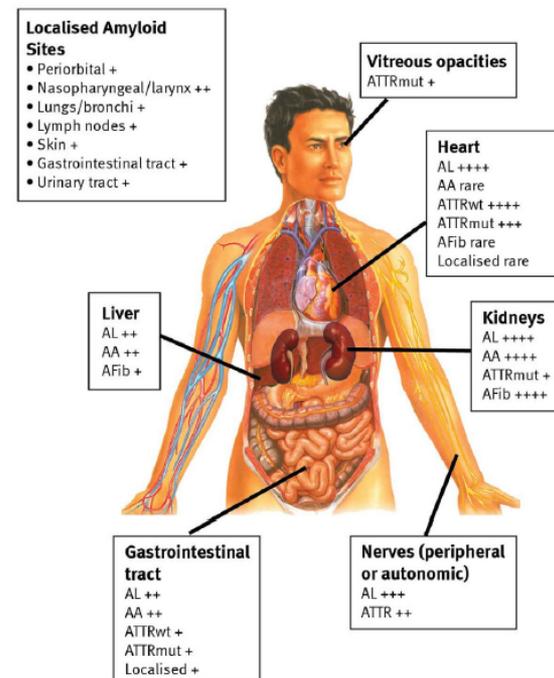
Ex : amylose à transthyrétine : atteinte préférentielle cœur et nerfs

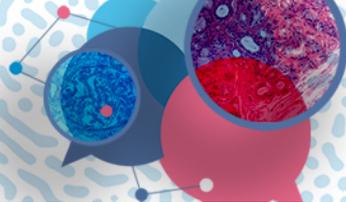
- **Diagnostic : histologique**

- Confirmation du **diagnostic** d'amylose et **typage**
 - **Indispensable pour traitement**

- **Cibles biopsiques variables**

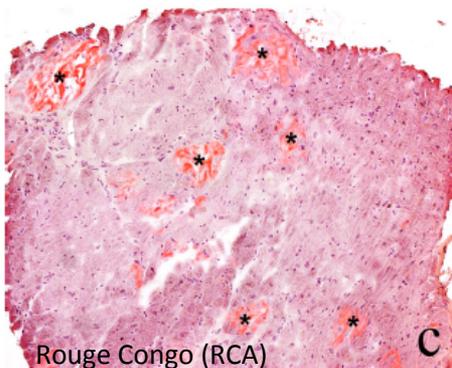
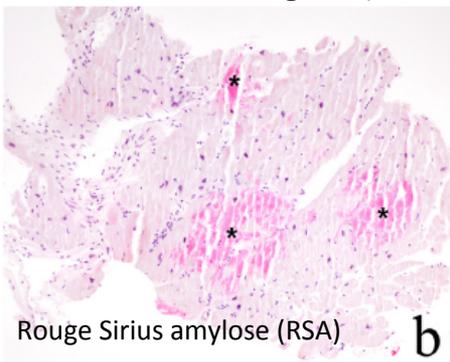
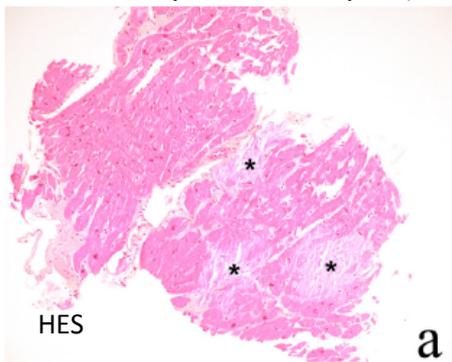
« non spécifiques » : **glandes salivaires accessoires (BGSA)**, graisse abdominale selon orientation clinique/biologique : **cœur**, rein, biopsie ostéo-médullaire, tube digestif, foie



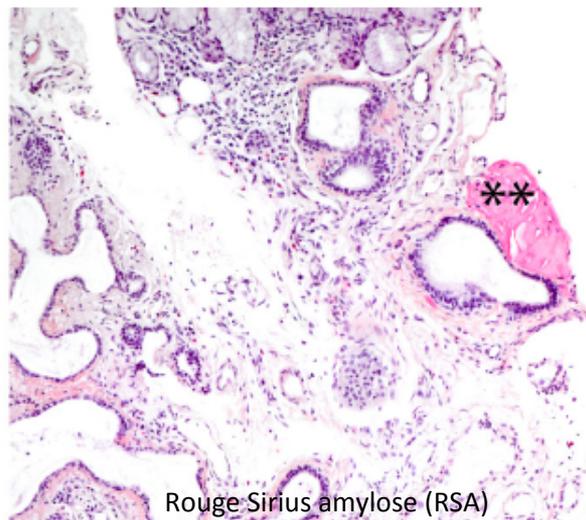


DIAGNOSTIC HISTOLOGIQUE : 1- présence de dépôts d'amylose

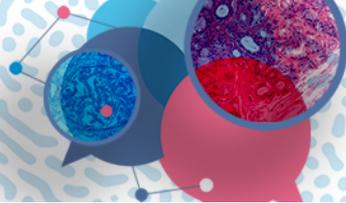
Biopsie cardiaque (fixée en formol et congelée)



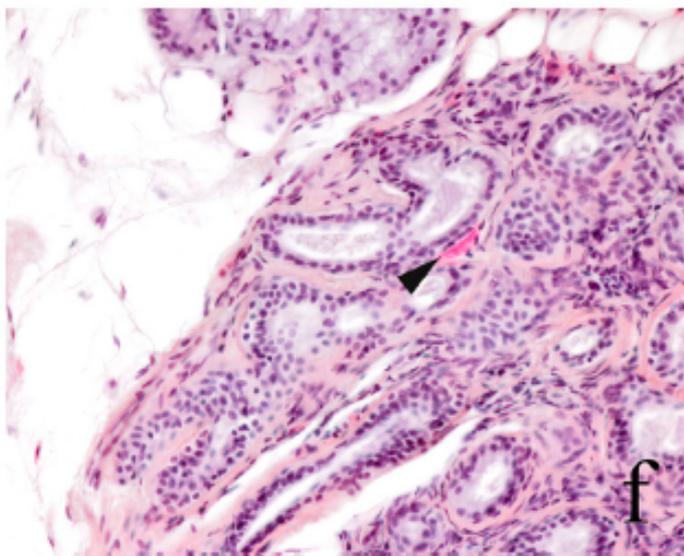
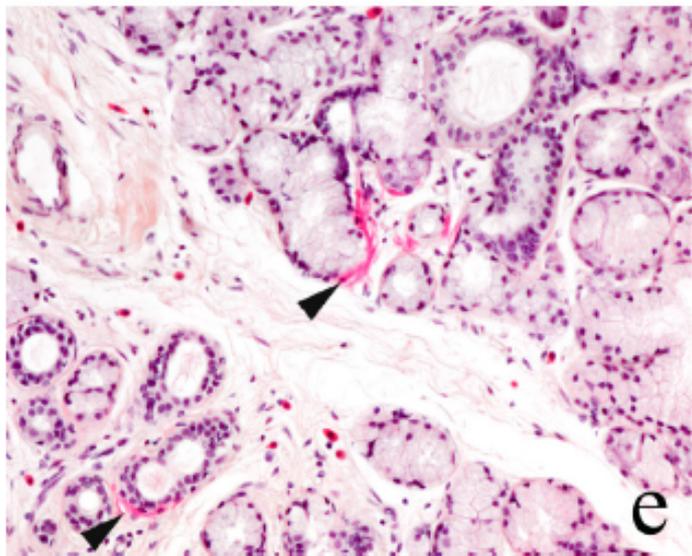
BGSA fixée



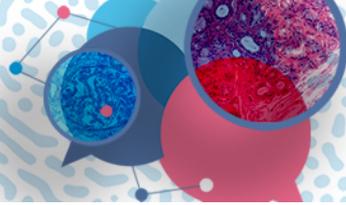
Volumineux dépôts nodulaires,
caractéristiques de l'amylose TTR



DIAGNOSTIC HISTOLOGIQUE : 1- présence de dépôts d'amylose

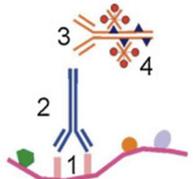


Qualité technique ++++

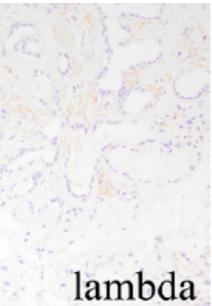
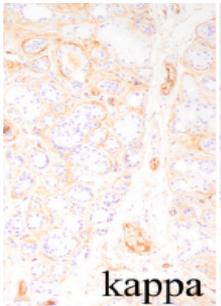
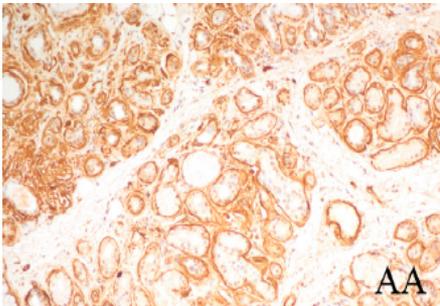
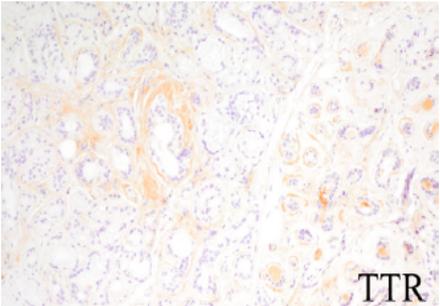
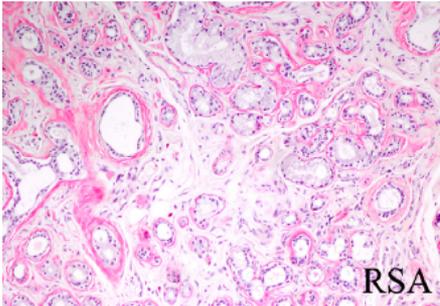


DIAGNOSTIC HISTOLOGIQUE : 2- typer l'amylose

A- Etude immunohistochimique (IHC)



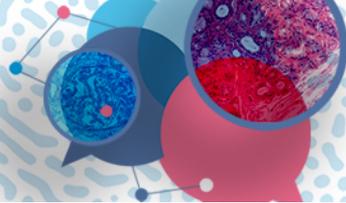
- 1 = Antigène
- 2 = Anticorps primaire
- 3 = Anticorps secondaire couplé au complexe avidine-biotine peroxydase
- 4 = Révélation par substrat de la peroxydase



Panel d'anticorps restreint, mais couvrant les amyloses les plus fréquentes :

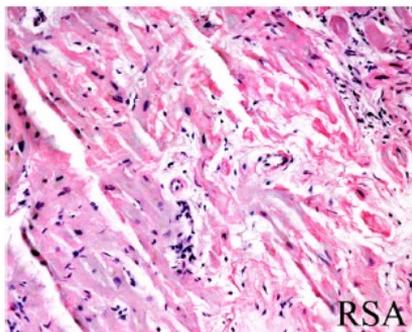
- transthyrétine (amylose ATTR sénile ou héréditaire)
- kappa/lambda (amyloses AL)
- protéine SAA (amylose AA)

Biopsie fixée incluse en paraffine

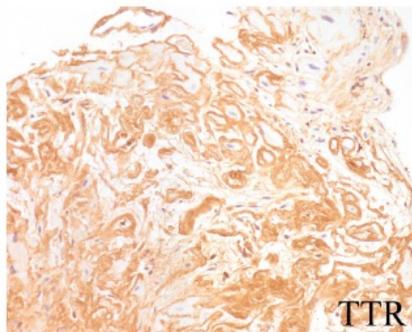


DIAGNOSTIC HISTOLOGIQUE : 2- typer l'amylose

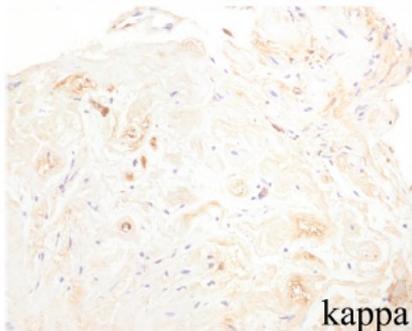
B- Etude en immunofluorescence



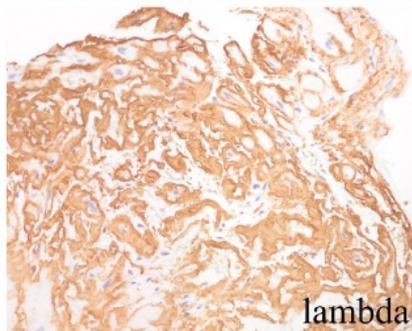
RSA



TTR

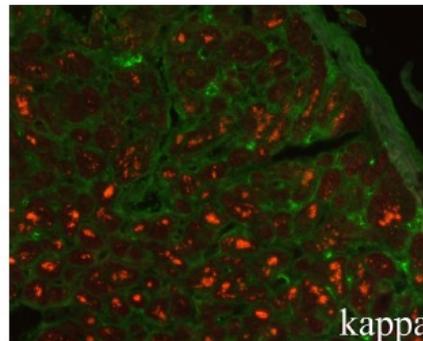


kappa

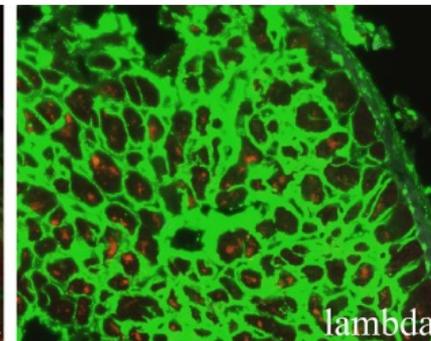


lambda

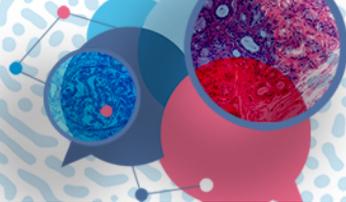
Complémentaire +++ de l'IHC
kappa/lambda (amylose AL)
Prélèvement congelé



kappa

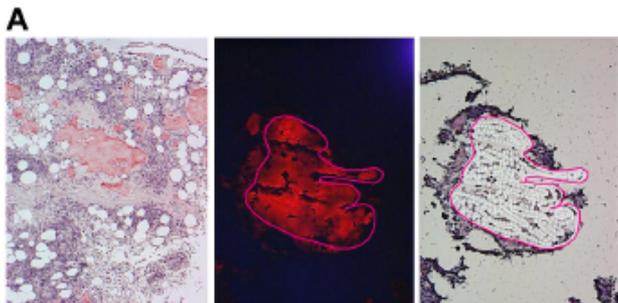


lambda



DIAGNOSTIC HISTOLOGIQUE : 2- typer l'amylose

C- Analyse protéomique : Microdissection laser et spectrométrie de masse



Centres spécialisés ++++

Prélèvement fixé inclus en paraffine

Microdissection laser sur coupe épaisse

Digestion enzymatique

Spectrométrie de masse en tandem

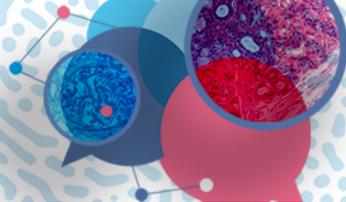
Typage dans 95% des cas

Diagnostic des amyloses rares

Facteur limitant : quantité de dépôts (impossible si trop fins)

B

#	Accession	MW	Control	1	2	3	4
1	ALBU_HUMAN	69 kDa		100% (36)	100% (35)	100% (36)	100% (35)
2	APOE_HUMAN	36 kDa		100% (19)	100% (17)	100% (18)	100% (17)
3	VTNC_HUMAN	54 kDa		100% (13)	100% (13)	100% (17)	100% (14)
4	KAC_HUMAN	12 kDa		100% (7)	100% (9)	100% (7)	100% (8)
5	APOA4_HUMAN	45 kDa		100% (15)	100% (19)	100% (17)	100% (13)
6	SAMP_HUMAN	25 kDa		100% (8)	100% (9)	100% (9)	100% (9)
7	C4BP_HUMAN	67 kDa		100% (11)	100% (10)	100% (12)	100% (10)
8	HBB_HUMAN	16 kDa		100% (4)	100% (8)	100% (9)	100% (7)
9	CLUS_HUMAN	52 kDa		100% (10)	100% (7)	100% (8)	100% (8)
10	COB33_HUMAN	344 kDa		100% (6)	100% (13)	100% (17)	100% (10)
11	APOA1_HUMAN	31 kDa		100% (7)	100% (5)	100% (9)	100% (7)
12	CO9_HUMAN	63 kDa		100% (5)	100% (5)	100% (5)	100% (7)
13	TRFE_HUMAN	77 kDa		100% (7)	100% (9)	100% (9)	100% (4)
14	HBA_HUMAN	15 kDa		100% (4)	100% (4)	100% (4)	100% (4)
15	CO3_HUMAN	187 kDa		100% (3)	100% (4)	100% (8)	100% (5)



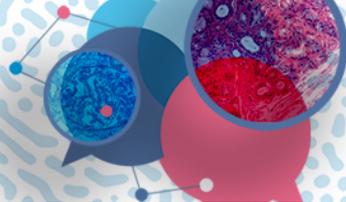
SPECIFICITES DU DIAGNOSTIC DES AMYLOSES CARDIAQUES

- Mondor : « CRAC » Centre de Référence des Amyloses Cardiaques
 - Environ 250 nouveaux cas d'amylose cardiaque / an
- Une dizaine de types d'amyloses cardiaques différents
- **Mais 3 principales (>95% des cas) : ATTR (transthyrétine) sénile (ATTRwt) ou héréditaire (ATTRv) et AL (chaînes légères kappa/lambda)**
 - Typables sur biopsies dans le Département de Pathologie dans la majorité des cas
 - Si doute ou échec (5-10% des patients) : envoi pour analyse protéomique par spectrométrie de masse (Dr Colombat, Toulouse)

Tableau 1 Liste des différentes amyloses cardiaques.
Different subtypes of cardiac amyloidosis.

Type d'amylose	Nature de la protéine	Organes les plus fréquemment touchés en plus du cœur	Héréditaire (D/N)	Méthode(s) de typage	
ATTR	Transthyrétine	ATTRwt (forme non héréditaire)	Canal carpien ^a	N	IHC (IF dans certains centres)
		ATTRv (forme héréditaire)	SNP, canal carpien, SNA	O	Spectrométrie de masse
AL	Chaîne légère d'Ig	Atteinte systémique diffuse – tous les organes sauf SNC	N	IHC	
AH ^b	Chaîne lourde d'Ig			IF	
AA	Protéine SAA	Rein, tube digestif	N	Spectrométrie de masse	
ApoA1	Apolipoprotéine A1	Rein, foie, SNP, peau, larynx	O	Spectrométrie de masse	
ApoA2	Apolipoprotéine A2	Rein	O	Spectrométrie de masse	
ApoA4	Apolipoprotéine A4	Rein, peau	N	Spectrométrie de masse	
AGel	Gelsoline	SNP/nerfs crâniens	O	Spectrométrie de masse	
Aβ2M	β2 microglobuline	Dystrophie grillagée de la cornée			
		Rein	Ostéo-articulaire, tendons, canal carpien	N	Spectrométrie de masse
ALys	Lysozyme	Forme non héréditaire (dialyse prolongée)	SNA, tube digestif	O	Spectrométrie de masse
		Forme héréditaire			
AAANF	Facteur atrial natriurétique	Rein, tube digestif, foie			Spectrométrie de masse

O : oui; N : non; SNP : système nerveux périphérique; SNA : système nerveux autonome; IHC : immunohistochimie; Ig : immunoglobuline; SNC : système nerveux central; IF : immunofluorescence.
^a Dépôts de chaînes lourdes moins fréquents que les dépôts de chaînes légères; ^b canal carpien précédant de plusieurs années le diagnostic d'amylose ATTRwt.



SPECIFICITES DU DIAGNOSTIC DES AMYLOSES CARDIAQUES

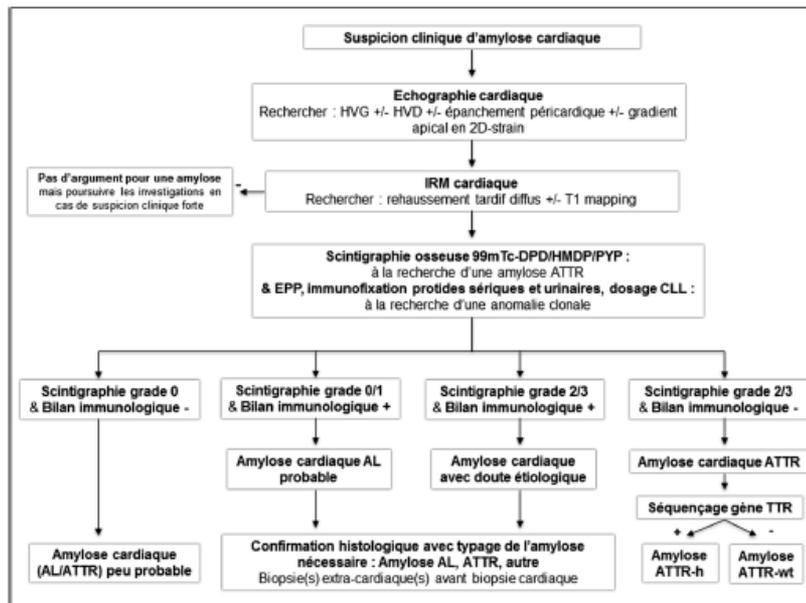
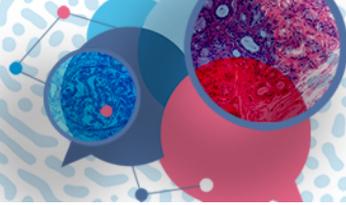


FIGURE 4
Stratégie diagnostique devant une suspicion d'amylose cardiaque. AL : amylose à chaînes légères ; ATTR : amylose à transthyrétine ; CLL : chaînes légères libres ; EPP : électrophorèse des protides sériques ; HVD : hypertrophie ventriculaire droite ; HVG : hypertrophie ventriculaire gauche ; TTR : transthyrétine



SPECIFICITES DU DIAGNOSTIC DES AMYLOSES CARDIAQUES

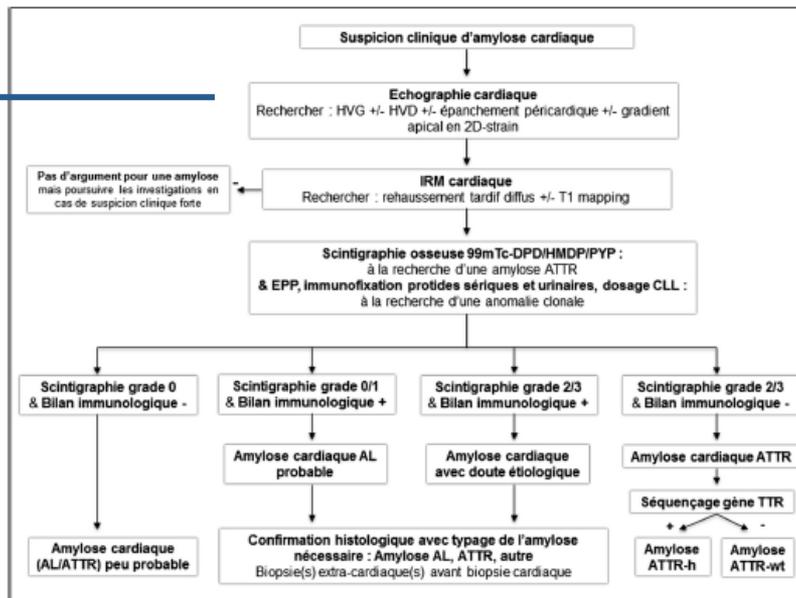
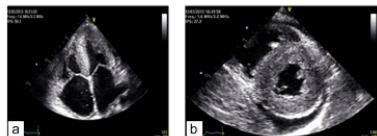
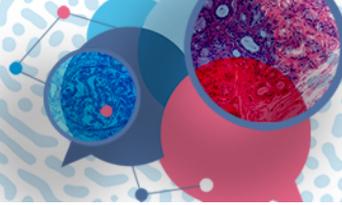


FIGURE 4

Stratégie diagnostique devant une suspicion d'amylose cardiaque. AL : amylose à chaînes légères ; ATTR : amylose à transthyréline ; CLL : chaînes légères libres ; EPP : électrophorèse des protéines sériques ; HVD : hypertrophie ventriculaire droite ; HVG : hypertrophie ventriculaire gauche ; TTR : transthyréline



SPECIFICITES DU DIAGNOSTIC DES AMYLOSES CARDIAQUES

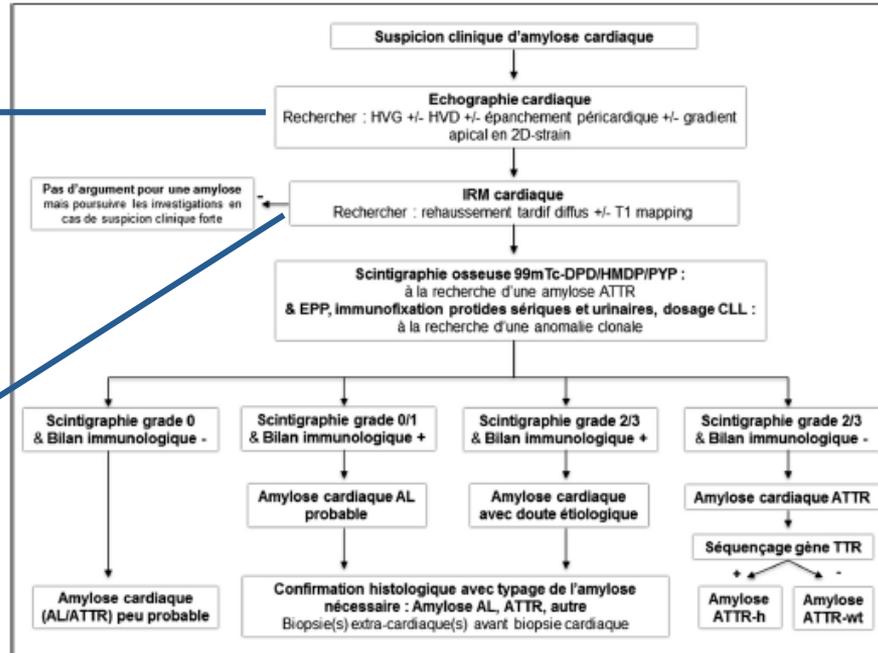
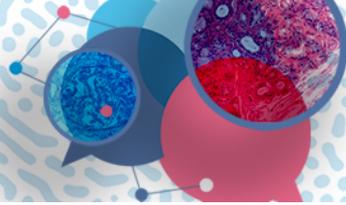


FIGURE 4

Stratégie diagnostique devant une suspicion d'amylose cardiaque. AL : amylose à chaînes légères ; ATTR : amylose à transthyréline ; CLL : chaînes légères libres ; EPP : électrophorèse des protéines sériques ; HVD : hypertrophie ventriculaire droite ; HVG : hypertrophie ventriculaire gauche ; TTR : transthyréline



SPECIFICITES DU DIAGNOSTIC DES AMYLOSES CARDIAQUES

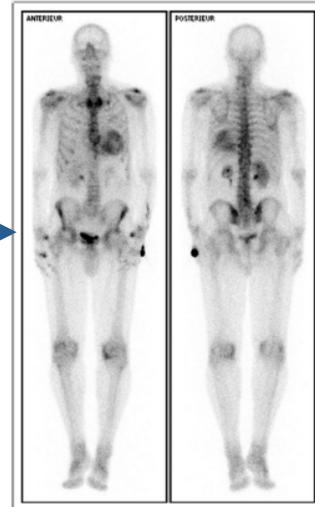
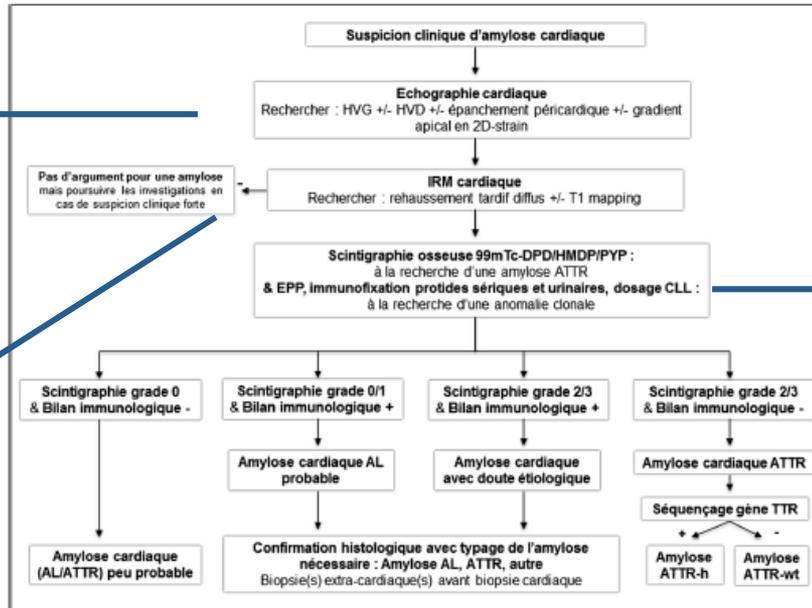


FIGURE 3
Fixation cardiaque intense (grade 3) du traceur osseux lors d'une scintigraphie, évoquant le diagnostic d'amylose ATTR

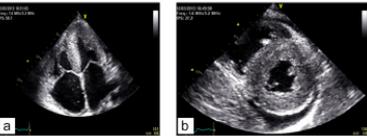
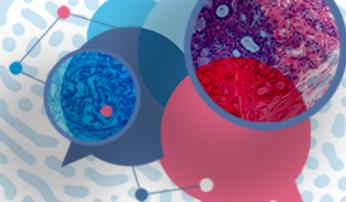


FIGURE 4
Stratégie diagnostique devant une suspicion d'amylose cardiaque. AL : amylose à chaînes légères ; ATTR : amylose à transthyrétine ; CLL : chaînes légères libres ; EPP : électrophorèse des protéidés sériques ; HVD : hypertrophie ventriculaire droite ; HVG : hypertrophie ventriculaire gauche ; TTR : transthyrétine



SPECIFICITES DU DIAGNOSTIC DES AMYLOSES CARDIAQUES (

La biopsie n'est pas toujours indispensable !

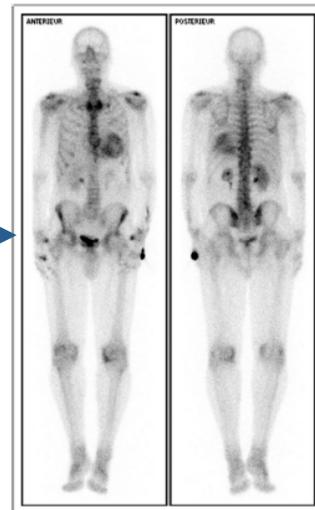
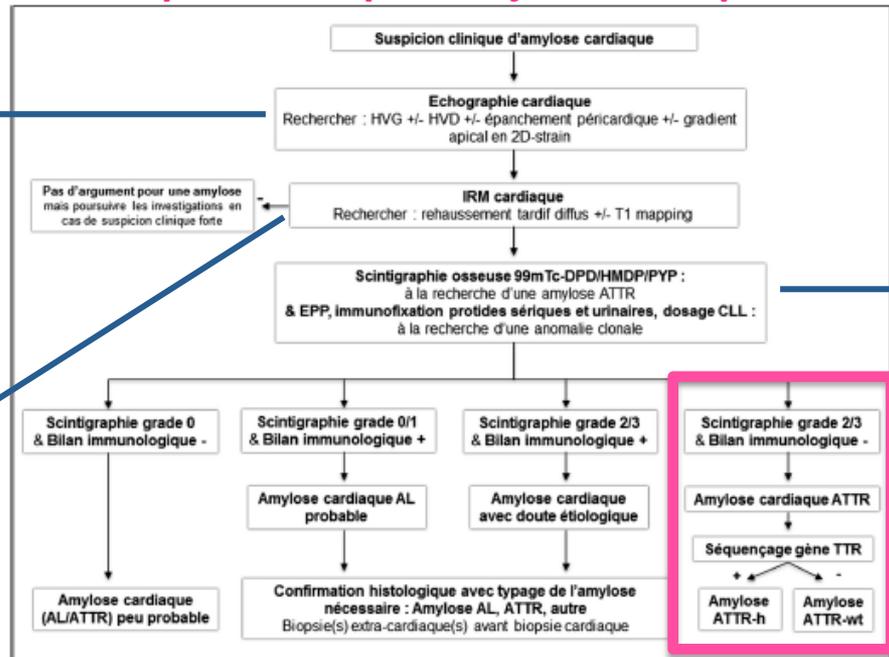
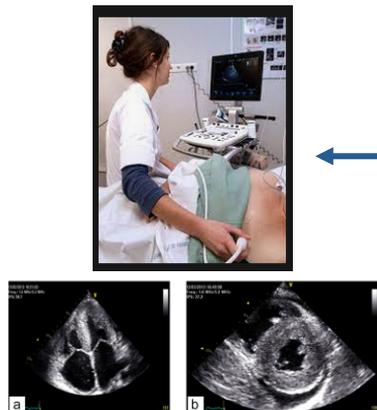
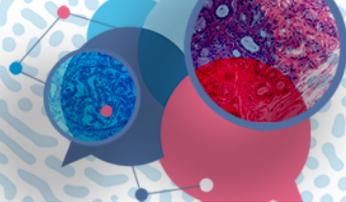


FIGURE 3
Fixation cardiaque intense (grade 3) du traceur osseux lors d'une scintigraphie, évoquant le diagnostic d'amylose ATTR

FIGURE 4
Stratégie diagnostique devant une suspicion d'amylose cardiaque. AL : amylose à chaînes légères ; ATTR : amylose à transthyrétine ; CLL : chaînes légères libres ; EPP : électrophorèse des protéines sériques ; HVD : hypertrophie ventriculaire droite ; HVG : hypertrophie ventriculaire gauche ; TTR : transthyrétine



CONCLUSION

Amylose : diagnostic et typage histologique

Techniques classiques mais mieux maîtrisées en cas de recrutement de cas importants

-> **intérêt des centres de référence** en cas de difficultés diagnostiques histologiques, difficulté de typage

Place importante de la **protéomique par spectrométrie de masse après microdissection laser, notamment pour le diagnostic des amyloses rares**

-> **centres très spécialisés**

Particularité des amyloses cardiaques : certaines amyloses TTR ne nécessitent pas de preuve histologique

Intérêt de la **collaboration inter-disciplinaire** et des cohortes des centres experts